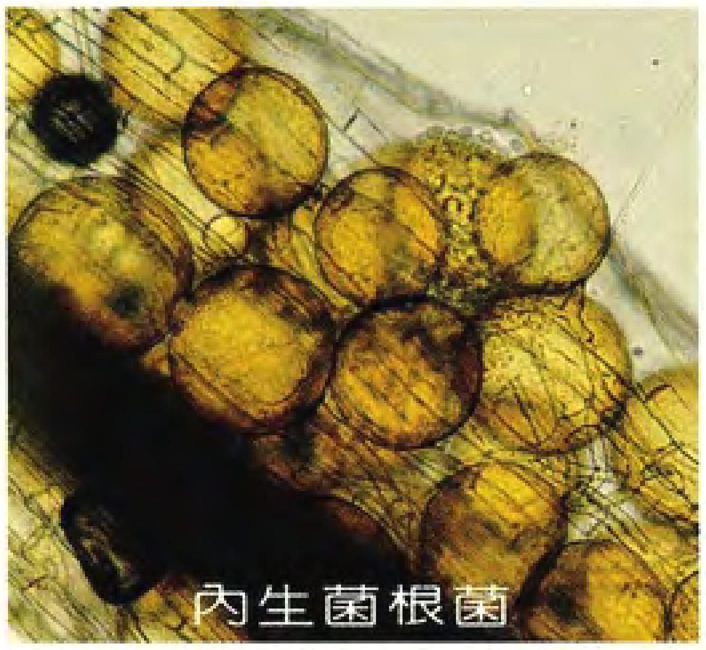
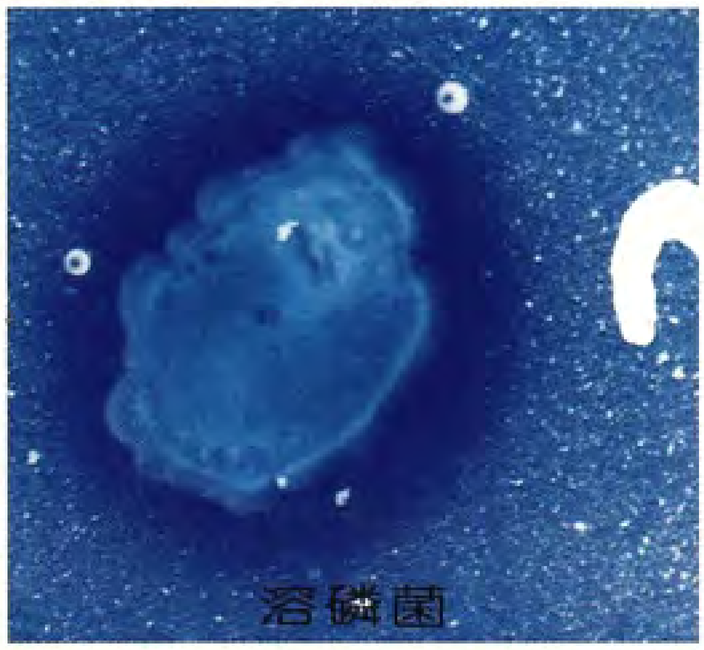
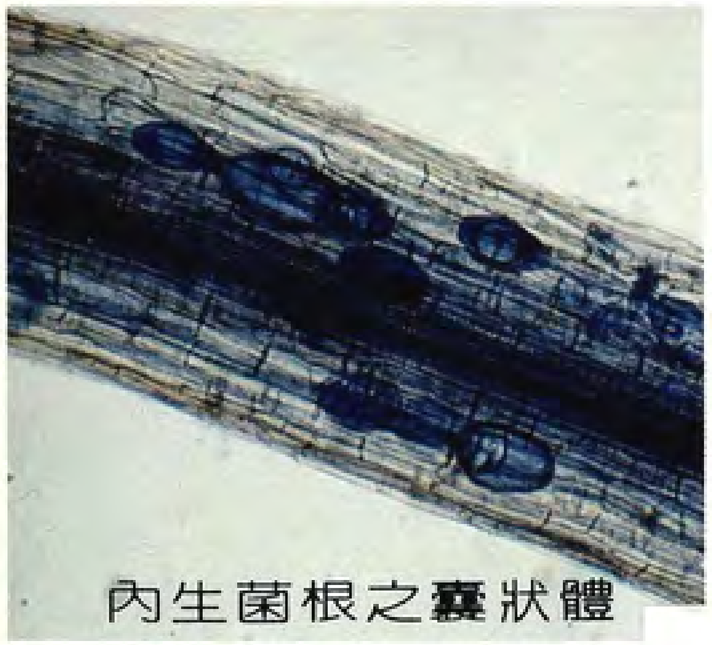
台灣省農業試驗所特刊第44號

微生物肥料之開發與利用研討會專刊

中華民國八十三年四月十四日至十五日於嘉義農業試驗分所







TARI LIB.
C005682

台灣省農業試驗所 主辦
中華土壤肥料學會
中華永續農業協會 協辦
嘉義縣農會
行政院農業委員會
台灣省政府農林廳 補助
台灣省農業試驗所嘉義分所 編印

中華民國八十三年六月

台灣省農業試驗所特刊第44號
ISBN 957-00-4053-X

微生物肥料之開發與利用研討會專刊

中華民國八十三年四月十四日至十五日於嘉義農業試驗分所

杜金池　程永雄　莊明富　主編

台灣省農業試驗所　主辦
中華土壤肥料學會
中華永續農業協會　協辦
嘉義縣農會
行政院農業委員會
台灣省政府農林廳　補助
台灣省農業試驗所嘉義分所　編印

中華民國八十三年六月

005682

TARI Special Publication No. 44

ISBN 957-00-4053-X

Proceeding of A Symposium on Development and Utilization of Microbial Fertilizer

Held at Chia-yi Agricultural Experiment Station, Chia-yi, Taiwan, Apr. 14-15, 1993

Edited by

Chin-Chyu Tu, Yung-Hsiung Cheng and Ming-Fu Chuang

005682

Sponsored by

Council of Agriculture, Executive Yuan

Department of Agrivultural and Forestry, Taiwan Provincial Government

Published by

Chia-Yi Agricultural Experiment Station, TARI

June 1994

微生物肥料之開發與利用研討會　83. 4. 14 —15於嘉義農試分所

目　　錄

台灣省農業試驗所杜所長金池致詞 I
台灣省政府余顧問增廷致詞 II
台灣糖業公司王副總經理兼糖研所所長傳釗致詞 III
嘉義縣農會黃總幹事本足致詞 IV
嘉義農業試驗分所程分所長永雄致歡迎詞 V

1. 生物肥料在永續農業上之應用及展望 .... 古德業、黃伯恩 1
2. 固氮菌的應用及發展 .... 楊秋忠 5
3. 台灣土壤環境生態與根瘤菌 .... 趙震慶 15
4. 根瘤菌與豆科宿主的關係 .... 宋樹群、林良平 31
5. 台灣固氮放線菌在林業上的研究及應用 .... 王維洋 43
6. 台灣毛豆根瘤菌推廣應用 .... 洪阿田、許秋玫 53
7. 滿江紅及固氮藍綠藻之研究 .... 簡宣裕、林錫錦、李啓彰 71
8. 溶磷菌的作用及應用研究 .... 楊秋忠、張淳堂、張鳳屏 87
9. 溶磷眞菌的溶磷機制 .... 簡宣裕、吳繼光 99
10. 茶園土壤中溶磷細菌生態調查及其應用 .... 張鳳屏、楊秋忠 115
11. 台灣內生菌根資源調查與種源開發 .... 吳繼光 131
12. 內生菌根菌接種源量產技術開發：傳統式砂耕法繁殖體系之建立 .... 程永雄、莊明富 157
13. 本土化氣霧耕量產菌根接種源 .... 王均琍 165
14. 囊叢枝菌根在花卉上之應用 .... 張喜寧、鄭淑芬、文紀鑾、江婉祺、邱郁月 173
15. 內生菌根菌在園藝作物上應用之經驗談 .... 陳銘森、洪欽祥 183
16. 利用生物濾床法去除農、工業臭味之研發與應用 .... 高銘木、劉保文、唐俊成 185
17. 快速腐熟堆肥製作之研究 .... 黃啓民、陳文崇、張順榮、李松伍、王隆煇 205
18. 硝化抑制劑之利用 .... 黃山內 215

綜合討論 223
研討會參加人員 229
研討會籌備大會及工作人員名單 231

Contents

Address by Dr. C. C. Tu, Director, TARI I

Address by Dr. T. T. Yu, Adviser, Taiwan Provincial Government II

Address by Dr. C. C. Wang, Director, Taiwan Sugar Research Institute III

Address by Mr. B. J. Huang, Director, Chiayi County Farmers Association........ IV

Welcome Address by Dr. Y. H. Cheng, Director, Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI .. V

Application and Perspective of Microbial Fertilizer on Sustainable Agriculture........
........T. Y. Ku and B. E. Huang........ 1

Application and Development of Nitrogen Fixing Microorganisms........
........C. C. Young........ 5

Soil Environmental Ecology of Rhizobia in Taiwan ....C. C. Chao 15

The Relationship between Rhizobia and Legume Host........
........S. C. Song and L. P. Lin 31

The Study and Application of Frankia in Taiwan Forestry ....
........W. Y. Wang........ 43

Extension on the Use and Application of Rhizobia Inoculation of Vegetable Soybean in Taiwan........T. A. Hung and C. M. Hsu........ 53

Studies of *Azolla* and Nitrogen-fixing Cyanobacteria ....
........S. Y. Chien, C. J. Lin and C. C. Lee........ 71

Function and Application of P-Solubilizing Microorganisms ....
........C. C. Young, C. T. Chang and F. P. Chang........ 87

Mechanisms of Phosphate-dissolving by Fungi........S. Y. Chien and C. -G. Wu........ 99

Ecological Survey of Phosphorus-Solubilizing Bacteria and Their Application in Tea Garden Soil........F. P. Chang and C. C. Young 115

General Survey of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Its Use in Agriculture........
........C. -G. Wu........ 131

Development for Mass Production of VAMF Inoculum by Sand Culture........
........Y. H. Cheng and M. F. Chuang........ 157

Mass Production of Mycorrhizal Inoculum by Domestic Aeroponic Culture ....
........C. L. Wang 165

The Use of Vesicular-arbuscular Mycorrhiza on Flower Crops........
.... C. N. Chang, S. F. Cheng, C. W. Wen, W. C. Chiang, and Y. Y. Chiu........ 173

Experiential Talk about Field Application of VAMF on Horticultural Crops ....
........M. S. Chen and C. S. Horng 183

The Development and Application of Agricultural, Industrial Odor Removal by Biofilter .... M. M. Kao, P. W. Liu and C. C. Tang 185
Rapid Composting of Bagasse .... C. M. Huang, W. C. Chen, S. J. Chang, S. W. Li and L. H. Wang 205
The Application of Nitrification Inhibitors .... S. N. Huang 215
General Discussion 223
List of Participants 229
List of Staffs 231

台灣省農業試驗所杜所長金池致詞

本來邱廳長要親自來參加這一個難得的研討會，也能夠利用這個機會向在座的各位學者、專家各界的朋友先進問好，但是因為臨時有要公，特別指派本人代表他向大家致意，並且對大家過去在農業界的貢獻，表示由衷感謝的意思。

我們都知道台灣在40、50年代，為了追求高的農業生產力，以及農民追求高單位面積產量的情形下，我們土地的利用，可以說是世界上少數的幾個利用率很高的國家當中的一個，我們的土地背負了太多的債務，我們農民為了追求高單位面積的產量，所以也依賴了特別高的肥料的使用。從一個事實我們可以曉得農民多麼依賴化學肥料，因為我們政府機關或是相關的單位推薦了某種作物肥料使用量，但是農民往往使用的是推薦量多二分之一或是多了一倍，以致於在這種高利用率，以及追求高單位面積產量的情況下，使我們的土地發生了太多的問題，我們的土壤太多是含很少的有機質，據統計有機質含量在百分之二以下的農田，約略有百分之六十。我們有太多的土壤已經酸化，太多的土壤鹽化，往往有很多人要問，為甚麼我們台灣的農田會酸化，會有機質含量特別低，為甚麼會鹽化，要問為甚麼我們會有這麼多的惡果。事實上，是因為我們早期種了太多的惡因。有鑑於此，所以近年來，我們從中央政府農業委員會，以及台灣省政府農林廳積極的推動永續性的農業生產，希望我們的農田能夠永續性的利用，作為糧食的生產之用。在這個工作推動的前題下，我們農林廳也建立了一個很好的系統、體系，就是土壤與植體分析服務的體系，這個體系對於農田適量的施肥方面，發揮了很多的功能。但是，雖然功能相當的好，使用的情況並不是非常的普遍，仍然有待我們加強。另一方面對於永續農業方面的研究，包括一般所熟悉的有機質的使用、病蟲害的微生物防治、生物防治，很多的問題都配合在進行當中。

今天我們召開微生物肥料的開發與利用研討會，也可以說是我們整體永續農業推動的一環，我們希望藉著這次研討會的機會，能夠達到三個目的。第一個目的我們希望能夠透過今天難得的產、官、學所有的人士、先進在一起的機會，能夠凝聚共識，以供未來研究、開發及供政府研訂政策的參考。除此之外，我們更希望透過這次的研討會使產、官、學及農業各方面有關的人士建立永續性糧食生產的土地利用觀念，不要為了追求高產量，將土地高密度的利用，使我們的農田不斷惡化下去。這個觀念就是要我們的農友，以後都按照我們的肥料推薦量來施用，並好好利用土壤與植體分析體系，適當地使用肥料，此觀念的建立是相當重要的。第三點目的是政府機關、學術單位雖然做了很多開發的工作，但是希望開發微生物肥料的技術能夠落實並建立體制，將此技術進一步轉移產業界，產業界生產後能夠大量提供農友使用，這樣才能落實研究的成果，使微生物肥料的開發真正讓農民得到實惠，以上是我們今天召開這次研討會的三項目的。看我們今天研討會的內容，涵蓋了固氮微生物、溶磷微生物、菌根菌以及其他有用潛力之微生物等四項主題，內容相當豐富，我們希望在一天半的時間，大家能得到很豐碩的成果，在此預祝我們大會圓滿成功，在座的各位貴賓身體健康、萬事如意。

這次的研討會，除了由農業試驗所主辦外，還有中華土壤肥料學會及中華永續農業協會共同協辦，我忝為今天主辦單位，對於協辦單位的配合，在此表示感謝之意。這次計畫的申請是由農業試驗所與嘉義縣農會共同提出與籌備舉辦，所以在此要特別感謝嘉義縣農會黃總幹事各方面的配合，才能使我們今天的研討會順利進行，最後祝 大家身體健康，謝謝！

台灣省政府余顧問增廷致詞

主席杜所長、王副總經理、王教授及各位教授、專家及黃總幹事：

你們都是土壤肥料方面的專家，今天老實講我是非常的外行，來到這裡，眞正來講我也不是官方的代表，官方的代表除了廳長以外，農林廳的柳科長應該可以代表官方才對。不過我當顧問的人，常常被抓公差抓習慣了，今天也趁這機會上台來，因爲杜所長不放過我。我想上這個台有三點意義，一個是跟大家見見面，並對主辦單位表示欽佩、感謝，因爲籌備這種工作實在是很不簡單。另外對各位主講人以及參與聽講的各位專家學者及同仁，表示我的支持與我的參與，我想這種工作非常有意義，因爲農業的發展，不管是甚麼時候，假如能夠降低成本，增加單位面積的產量，減少施肥及栽培上的麻煩，能愈簡單愈好。當然，尤其在今天，加入GATT以後，各方面的衝擊，我們在農業的研究方面更應該有所突破。在技術的層面，我想這種所謂微生物肥料的開發，老實講，今天我如果不來的話，我也不曉得內容是怎樣，所以這是我學習很好的機會，看到這些報告，起碼讓我知道，那裡面用了根瘤菌、固氮菌、菌根菌、溶磷菌、藍綠藻、滿江紅這些東西，利用有機的方法，利用更科技的方法來施肥。今天談到永續性的農業，有機質的應用這是很重要的一環，所以今天這個研討會，假若有很大的突破，對於我們將來的農業生產，對於我們將來的肥料利用方面是有二個意義的，正面的來講，他是興利的，興利方面是增加生產減少成本，剛才講到，簡單的施肥方法，便利的施肥方法，可是另外一個更有效的作用就是除害，因爲剛剛主持人杜所長也講到，我們用了太多的化學肥料或者化學農藥這些東西以後，不管是地力也好，環境也好，遭到很大的破壞、很大的損傷。假如我們能夠在這方面有所突破的話，這是除害的一個很積極的意義。所以不管怎麼樣，今天我們在一個技術的層面，不管國際的貿易也好、政治也好，種種的衝擊，但是在技術的層面，我們假如能夠做到的興利除害，利用有機質、利用微生物的開發，我們可以產生很多對農業發展都不太好的情況下，假如能夠很簡單很方便的施用肥料，而且能夠對自然的生態保育有貢獻的話，這個很自然的農業生產是我們將來農業要走的方向。今天很高興再一次到這裏來跟很多的朋友見面，謝謝大家！

台糖公司王副總經理兼糖研所所長傳釗致詞

主席杜所長、余顧問、黃總幹事及各位貴賓、女士先生們以及農業界的好朋友，大家好：

杜所長跟我講，今天你來參加的話，要我講30秒鐘，我想講30秒鐘已經差不多夠了，因為我感覺二十一世紀快要來臨了，二十一世紀我相信大家都知道，可能是一個非常重要的生物科技的世紀。所以今天農林廳或農業試驗所的各位，能夠參加這個具有前瞻性及具有理論與實務的研討會，很榮幸的參加討論生物科技問題，我感覺非常的恰當，本人願意在這裏非常的相信，今天的這一次研討會一定會非常地成功、圓滿，假如有需要台糖公司服務的地方，一定全力支持，謝謝大家！

嘉義縣農會黃總幹事本足致詞

主持人杜所長、各位貴賓、各位先進大家好：

我們嘉義縣農會在這個農委會跟農林廳指導之下，最近設立了一個嘉義縣堆肥集中處理中心，就是把我們嘉義縣養豬場所產生的豬糞運到我們堆肥中心，集中來處理來製造有機肥料。今天的研討會的節目，最後的一個節目是安排到處理中心來參觀，歡迎各位來參觀，給我們指導。另外，我順便報告各位，就是我剛剛出去，接到邱廳長的電話，他現在在雲林縣參加一個會議，可能在下午四點多會直接到我們堆肥場去參觀，假如時間沒有變動的話，邱廳長四點多會到我們堆肥場去參觀，謝謝大家，謝謝！

嘉義農業試驗分所程分所長永雄致歡迎詞

今天大會的主席杜所長、余顧問、王副總經理、土壤肥料學會王理事長、黃總幹事、各位長官、各位貴賓、各位業者、各位女士、各位先生：

今天農業試驗所在嘉義分所召開「微生物肥料之開發與利用研討會」承蒙各位長官蒞會指導，同時有來自全省各地的專家學者、農業生產者以及業者約二百餘位前來共襄盛舉，本人僅代表主辦單位在此表示誠摯的歡迎與感謝之意。

由今天參加本次研討會之熱烈盛況，可見大家對利用天然資源微生物肥料之重視。回顧台灣過去為提高農業生產，太過依賴化學肥料、化學農藥之使用。此兩項化學物質之使用，的確曾大幅提高了農產品的生產，提高農民所得，也為國家奠定了經濟發展基礎，但由於長期使用化學肥料及農藥的結果，自然生態系遭受破壞；而化學肥料之大量使用，非但使土壤劣化，更因忽視有機質的補充，而嚴重破壞土壤內微生物的繁殖，導致土壤病害之益形猖獗；此外更因農藥及肥料滲入土壤，污染地下水或流入水庫而污染水源，這些事實都是大家熟知的負面作用。此次研討會之目的，是在探討微生物肥料在農業永續性生產力之效應及檢討目前使用的情形，供作進一步研究之參考。

本研討會承行政院農業委員會及省政府農林廳補助經費，中華土壤肥料學會、中華永續農業協會的協辦及蒙學者專家支持提供論文發表與多位有名學者及長官擔任主持人，至表謝意。分所同仁在籌辦過程中相當辛勞，也在此表示慰勉之意。

研討會中若有不便之處請包涵指正，更希望各位專家學者於研討會中熱烈參與討論切磋，使這次研討會成果更加豐盛。最後再次謝謝各位貴賓、女士、先生光臨指導，敬祝各位萬事順意，身體健康，謝謝！

生物肥料在永續農業上之應用及展望

古德業　黃伯恩
行政院農業委員會農糧處

前　言

農業現代化以來，爲提高農業經營利潤及降低生產成本，多採取單一作物栽培，使用大型農機耕作，及普遍施用化學肥料及農藥，此種耕作方式長期下來，導致土壤生態平衡受到影響，甚至農產品品質有衛生安全之虞，以致土壤生產力降低，成爲現代農業生產之隱憂。因此，在美、歐、日等先進國家皆積極倡導與環境生態協調之永續農業生產之理念。所謂永續農業(Sustainable Agriculture)，據1990年美國國會發表之定義爲「集合生物、植物、動物之綜合生產體系，可隨地區而有不同運作情形，長期而言，能提供人類所需食物及纖維，除具經營性外，可以提高自然資源及環境之素質，循環利用不能再生的資源及農產廢棄物，以生物循環來控制病蟲害，農場生產有經濟性利益，及能提高人類生活品質之農業生產方式」。

從上面的說明中，永續農業是要有效利用環境中之資源，在自然界中有極爲豐富之微生物資源，其中有些直接或間接對農業生產有助益，如與植物共生之眞菌細菌等可增加植物營養要素之供應，或提高營養要素之有效性，或增加植物對不良環境之抵抗力，利用此一微生物可減少化學肥料甚至農藥的使用量，減少這些化學製品對環境之影響，是永續農業要達成目標之一。

微生物對農業生產之影響

1. 增加肥料之供應：如空氣中占80%之氣態氮素(N_2)不能被植物吸收利用，經過固氮菌的作用才能被作物吸收利用，如豆科根瘤菌具有此一固氮功能，增加氮肥之來源。
2. 增加土壤中養分之有效性：土壤中所含各植物營養要素並非都能供植物吸收利用，如土壤中磷與鋁、鐵、鈣等結合成不溶性物質，不能供植物吸收，有些細菌分泌有機酸，幫助磷化合物之分解，增進磷之有效性吸收。
3. 分解有機物：大部份有機物都是大分子構成之聚合物(Polymer)，如纖維質、澱粉等多醣類是由單元體的單醣以化學鍵結合而成的鏈狀體，必須由微生物分泌的化醣酵素分解成單元體的單醣，植物體才能利用。其他如蛋白質、脂肪等。但同時微生物亦利用有機物分解時，所產生之能量得以繁衍，形成共存共榮。
4. 土壤改良：由於微生物的繁殖分泌粘液，促進土壤形成團粒構造，且其排出之氣體，形成氣壓疏鬆土壤，改良土壤之耕耘性。
5. 病原菌之拮抗作用：微生物的一些分泌物質對其他生物之生存具有抑制作用，此種拮抗微生物可供土壤或植體中的病原菌減少或甚至於滅絕，可減少病害，降低農藥之使用量。

6. 解毒作用：有機物發酵或嫌氣性細菌產生之有害氣體如硫化氫、氨氣等會造成根部的傷害，在土壤微生物族群中，如光合成菌，可利用硫化氫、二氧化碳及日光、水等轉化爲單醣類或硫酸根與氨，又再化合爲硫酸銨成爲植物可利用的肥料，不但可解除對植物的毒害，且可增加肥料要素的來源。又如亞硝酸菌可將氨氣轉化爲亞硝酸，再由硝酸菌氧化爲硝酸態氮，供植物吸收利用。

7. 聚合形成土壤腐植質：經繁殖後的微生物殘體，本身是高營養價值之有機營養如細胞膜中之蛋白質、脂肪等，另細胞質中含有大量之氨基酸、核酸等都是植物可供用之有機營養份。

目前生物肥料主要研究工作與成果

一、固氮菌及溶磷菌之應用研究：

1. 分離根瘤菌菌株及引進外國菌種，進行田間測試。
2. 篩選出溶磷菌及生產供田間試驗用。
3. 篩選出紅豆、綠豆之根瘤菌供田間試驗用。
4. 探討溶磷菌、固氮菌等複合生物肥料應用於一般作物之效應。
5. 開發微生物接種劑被覆於種子之技術，探討單獨接種，或將溶磷菌與菌根菌接種於育苗介質，以增加育苗成活率，茁壯苗期之生育。
6. 不同金屬離子對固氮菌固氮效率之影響，以供栽培技術改進之參改。
7. 利用微生物以增加作物對逆境如抗旱，抗鹽之抵抗力。

二、內生菌根菌之研究：

1. 開發大量繁殖內生菌根菌之生產技術，並找出不同菌種之宿主，以生產種源供試驗及推廣之用。
2. 柑桔苗木培育過程中接種菌根菌，供柑桔苗菌根化，以提高苗木之成活率。
3. 菌根接種在苦瓜、草莓、花卉、洋蔥等之效益，並在百合組織培養苗之利用
4. 利用種子覆層(Seed Coating)菌根菌接種方法之可行性。

三、堆肥化微生物之篩選與應用：

1. 篩選及純化堆肥化過程中重要微生物如纖維分解菌、固氮溶磷菌、除臭菌及產生抗生素之放線菌等，並將之回接至堆肥中加速堆肥腐熟，提高肥效及兼具生物防治之效力。
2. 針對農產廢棄有機物稻草、穀殼、米糠、太空包等添加微生物製作成堆肥，探討其肥力及對作物之效益。

四、生物肥料利用及推廣成效：

1. 毛(大)豆接種固氮根瘤菌：自民國七十七年起農委會補助計劃在高屏地區推廣，菌種由國立中興大學供應，一般農民毛豆施肥量偏高，據高雄區農業改良場調查，民國七十七年毛豆肥料成本7,884元/公頃，經多年宣導稍有改善，82年施肥成本減爲3,974元/公頃，6年平均施肥成本爲5,533元/公頃，一般推荐量(三要素爲60-60-60公斤/公頃)之施肥成本爲2,784元/公頃，但接種固氮菌氮肥推荐量爲20公斤/公頃，施肥成本更減爲2,004元/公頃，每公頃較農民慣用施肥量節省3,529元/公頃，6年來共推廣約15,000公頃,可節省施肥成本達5,000萬元，另可提高產量及品質，農民增加收益尚未計算在內，且減少氮肥之施用量對維護環境亦有助益。

2. 洋香瓜育苗接種菌根菌之推廣：自民國七十八年起在農委會補助計畫推廣菌根菌在洋香瓜育苗上應用以來，菌種由農試所嘉義分所供應，因菌根菌種源大量繁殖受到限制，每年只有在300～400公頃，目前已由嘉義分所供應原種，並技術移轉大型育苗中心自行繁殖種源，接種後之瓜苗供應農民種植，八十三年度已增至460公頃。且瓜苗可擴大至苦瓜、西瓜等，經嘉義分所調查洋香瓜接種菌根菌之效益如下表：

洋香瓜接種菌根菌之效益(元/0.1ha)

項目 \ 地區		嘉義溪口	台南市
接種區	產值	97,323	66,685
	成本	60,138	34,728
	效益	37,185	31,957
對照區	產值	75,855	50,800
	成本	61,432	35,254
	效益	14,452	15546
增加益		22,233	16,411

資料來源：嘉義分所

另接種菌根菌之洋香瓜進行宿根栽培，成功率達70%，節省成本，且收穫時逢市面值缺貨期，價格看好，0.1公頃之純收益達114,600元。

展　望

1. 化學肥料之普遍使用不僅污染土地及水源，另製造化學肥料消耗大量能源及不可再生之資源，在可預測之未來，資源能源終將耗盡，爲了後代子孫著想，有必要調整現代化的農耕方法，少用化學肥料及農藥等合成產品，多多利用自然界存在且爲數龐大的微生物，是一多樣化且豐富之資源，有待今後加強開發利用。

2. 目前市售生物肥料產品種類品牌複雜，品質良莠不齊，且價格多昂貴，雖然產品多元化是現代商品之趨勢，且可因作物及土壤狀況來選購，但價格要合理，農民購用生物肥料與實際產生之效益要有合理之利潤，即是使用生物肥料讓農民有錢賺，農民才有購買之意願，產品才能在市場上發展。

3. 現有之肥料管理辦法中，未將生物肥料列入管理範圍，爲確保品質，以保障農民權益，有必要在未來之肥料管理法中將生物肥料列入管理，制定產品品質規格，尤其對有害成分加以限制，防止對環境造成不良影響。

4. 目前許多學術單位研究之生物肥料具有良好之成效，產品也不少，但眞正移轉民間業者量產、大量供應農民使用且價格大眾化之產品尙付缺如，亟需加強將研究成果技術移轉推廣，使研究成果眞正落實於農業生產。

5. 生物肥料並不能完全取代一般肥料產品，不能迷信生物肥料是萬能產品，作物生產上仰賴一般肥料來補充營養元素仍有其必要，因此，合理的施肥是將一般肥料(化學肥料及有機質肥料)配合生物肥料來使用，才能使微生物肥料發揮其功效，並能降低生產成本。另土壤條件不良時，如土壤太酸等，也需先對土壤加以改良後施用生物肥料才能發揮功效。

參考文獻

1. 李遠豐 1994 土壤微生物在永續農業上之應用。豐年 44:24-34。

2. 程永雄、莊明富、杜金池 1993 內生菌根菌*Glomus clarum*應用在洋香瓜生產上之效益評估。中華農業研究 42:74-84。

3. 張喜寧 1992 台灣園藝囊叢枝菌根之研究與展望。科學農業 40:45-52。

4. 楊秋忠、趙震慶 1988 作物土壤微生物肥料的應用手冊。

5. 簡宣裕、吳繼光 1994 微生物肥料之使用及其評估。農藥世界 125:41-45。

固氮菌的應用及發展

楊秋忠
國立中興大學土壤研究所

摘　要

肥料三要素氮、磷、鉀中，唯一能來自大氣中的是氮，但此種氮氣不能直接被植物利用，需要將氮氣轉化成氨才能被植物利用，將氮氣轉化為氨的過程謂之「固氮作用」。生物固氮是自然界的固氮微生物的作用，氮氣經由固氮細菌、放線菌或藍綠藻之固氮酵素轉化成為氨態氮，其中農業上最多的是屬於根瘤菌。根瘤菌的應用上可以減少施用氮肥，減少環境中氮的污染及土壤酸化，可提高豆科的產量及品質，並增進土壤肥力及健康。固氮菌的應用上以篩選優良菌種為首要工作。在台灣大豆根瘤菌之生理生化的研究已有相當之報導。

田間試驗中，接種根瘤菌，結果發現對大豆、毛豆、花生、銀合歡產量較未接種的處理均有增加。接種根瘤菌及菌根眞菌到台灣的六個試驗地，結果顯示單獨接種根瘤菌的處理明顯增加大豆根瘤生成、瘤重及固氮酵素之活性，而對大豆產量有高達134%之增產；而雙重接種根瘤菌及菌根菌，對大豆產量之影響範圍有達145%之增產。固氮菌在台灣研究發展已邁向多功效及多作物應用之菌種，除具固氮作用外，已篩選出固氮溶磷之菌種，並已初步完成非豆科與根瘤菌形成根瘤之研究發展，將使固氮菌成為多目標用途之菌種。

關鍵字:生物固氮、共生固氮、協同固氮、非共生固氮、根瘤菌

前　言

肥料三要素氮、磷、鉀中，唯一能來自大氣中的是氮，雖然大氣存有大量的氮氣(N_2)，但此種氮氣不能直接被植物利用，需要將氮氣轉化成氨才能被植物利用，將氮氣轉化為氨的過程謂之「固氮作用」，固氮作用主要包括「生物固氮」及「工業固氮」。生物固氮是自然界的固氮微生物的作用，氮氣經由固氮細菌、放線菌或藍綠藻之固氮酵素轉化成為氨態氮，其中農業上應用最多的是屬於根瘤菌，根瘤菌進入豆類的根部，並形成根瘤，固定氮素供應植物氮源[11]。豆類接種適當的根瘤菌，可以固定的氮素，獲得氮肥營養。禾本科及其他非豆科作物根圈周圍生存的固氮菌，可以提供植物少量氮素，也有保護根系的功能。土壤中有大量的游離固氮菌菌種，其單位面積固定氮素雖然比共生(symbiotic)及協同(associative)固氮較小，但且在大地中默默耕耘者，至今在農業應用固氮菌上仍以根瘤菌的應用為多[4]。

本文將以基礎瞭解生物固氮作用之種類及特性，進而瞭解台灣研究本土固氮菌的情況及本研究室在固氮作用的研究結果。

土壤中固氮菌的種類及作用

土壤中固氮菌的種類甚多，但都是屬於無細胞核的原核生物(prokaryotes)，包括有細菌(有機營細菌、光合硫化細菌、根瘤菌)、放線菌、藍綠藻等[11](表一)，其中在生態的系統上又可區分為

游離性(free-living)、協同性(associative)及共生性(symbiotic)的固氮作用。游離性之固氮菌是分布在陸地及水體中，協同性固氮菌則分布在根圈及葉圈上，因未形成特殊構造，與共生性固氮菌有特殊構造(如瘤狀或囊狀)不同。

生物固氮的固氮酵素之作用能力甚廣，能還原氮氣(N_2)轉化成氨(NH_3)外，尚能還原乙炔(C_2H_2)成乙稀(C_2H_4)，氰(CN^-)還原成氨(NH_3)及甲烷(CH_4)等等的工作，此類物均含N≡N，N≡C，或C≡C之物質，如表二所示[12]，而對C≡O則無法作用。固氮酵素的環境中是需要無氧條件下，因此在菌體或根瘤內都需要保護之系統，如多醣、構造蛋白質或豆血紅素的隔絕保護，或將氧氣消耗等等作用，如呼吸作用的效率增加及減少該區域之光反應等。

固氮作用的重要性

根瘤菌的應用上可以減少施用氮肥，減少環境中氮的污染及土壤酸化，提高豆科的產量及品質，並增進土壤肥力及健康。減少化學氮肥施用，有助節約消耗不可再生性能源的目標。Schubert and Wolk[13]指出豆科固氮作用所消耗植物本身的能量，約等於植物吸收及利用硝態氮(NO_3^-)的能量，解開以往只對豆科固氮耗能的誤解(表三)。生物接種劑生產成本低及應用簡便，而在生產氮肥則消耗大量能源及運輸施用經費等，需要重視，但根瘤菌只限在豆科上應用，非豆科及禾本科則有待研究。

固氮菌的應用上以篩選優良菌種爲首要工作，需從分離及純化後，進行初步溫室及最後的田間篩選工作，篩出適應性及共生性佳的品系，以混合菌株的接種劑做爲應用的菌種。根瘤菌的接種劑在應用上甚爲簡便，只要與種子混合後即可播種，使用菌液量每公頃約爲2～4公升，而在台灣一般常見毛豆每公頃使用尿素約在200～400公斤，相比之下，即見使用根瘤菌省時、省錢及省力。

台灣現階段生物固氮的研究及應用

在全世界固氮應用發展上已有相當基礎[1]，台灣現階段在生物固氮的研究及應用以共生性固氮微生物爲多，協同性及游離性的微生物之研究則甚爲缺少[7]，以下分別簡要提台灣現階段的情況:

1. 共生固氮作用:

(1)豆科:

1. 農產生產:豆科作物與根瘤菌共生固氮的研究已有相當的基礎，在應用上已發展數種豆科(如毛豆、大豆、花生等)根瘤菌之接種劑，農委會及農林廳已進行毛豆接種劑之示範推廣，在根瘤菌之生理化之研究已有部份成果，由於台灣大豆快生型根瘤菌之發現及遺傳質體的分離，將有助國內根瘤菌之發展。
2. 牧草:只有埃及三葉草使用接種劑，其他豆草固氮研究甚少。
3. 林木:豆科樹種之固氮菌(銀合歡、相思樹)已有菌種之研究，其中以銀合歡根瘤菌雖已完成，但受蟲害影響，未配合用。

(2)非豆科:

研究則以林木樹種及禾本科爲主，曾有少數樹種(如赤揚)爲研究對象，而至今以菌種之分離爲多，尙未達應用階段。水田滿江紅與藍綠藻共生之應用也有甚多的報告，由於人工及殺草劑之影響，未被應用。促進禾本科形成根瘤之研究在台灣已有初步結果，但固氮能力之加強有待研究。

2. 根圈固氮:

研究以農藝作物爲主，研究上曾分離菌種及進行田間試驗階段，但只有少數作物進行試用，以玉米及牧草爲主，有增產之效果報告，但未達應用階段。

3. 游離固氮:

研究是以土壤及水田之微生物爲主，其中在國內以藍綠藻之研究較多，主要以生理生化研究爲主，應用研究尙少。

固氮研究方面尙缺乏對抗逆境之選拔，例如可抗其他病害微生物及各種環境之壓力，如乾旱、農藥、炎熱等。育成對土壤適應性廣，又能有高固氮之豆科甚爲重要，如高光合作用、低光呼吸及延長固氮期之豆科作物，並未重視。

根瘤菌之研究及應用

本研究室多年來主要在固氮菌、溶磷菌及菌根菌之研究上，其中有關固氮研究是以共生根瘤菌爲多，以下分別說明各項研究情況:

1. 優良根瘤菌之篩選:

自本省不同土壤、不同作物根部(包括:大豆、紅豆、花生、豌豆、綠豆、銀合歡、螢多籐、田菁、紫雲英及山珠豆等作物)分離根瘤菌，經含剛果紅(congo red)的酵母抽出物甘露醇洋菜培養基(yeast extract mannitol agar medium)分離菌株並經劃線純化後，供試。選拔優良的根瘤菌菌株配製粉劑(inoculant)並經推廣，達到節省施用氮肥並使作物增產之目標[14]。

2. 根瘤菌之生態研究:

瘤菌在土壤中的存活，影響豆科植物根瘤的形成及固氮作用。以人工培養基(defined medium)培養銀合歡根瘤菌Nif 94A_3，接種到非殺菌土中，在42天貯存期中，以螢光抗體法觀察，發現菌數隨時間增加而減少，約下降1000～2000倍。且每週減少的比例，亦隨時間增加而減緩。且以甘露醇(mannitol)爲碳源之人工培養基所培養之根瘤菌Nif 94A_3，在高石灰用量土壤中(pH 6.60)之存活率，高於以半乳醣(galactose)及阿拉伯醣(arabinose)爲碳源的人工培養基所培養出之同一菌株，但在低石灰量的同一土壤中(pH 5.4)，兩種培養基所培養之Nif 94A_3的存活率無差異。此結果顯示培養根瘤菌所用的培養基，若能配合土壤理化因子，將有助於根瘤菌在土壤中的存活[8,15,16]。

3. 根瘤菌之生理生化及共生性質:

自台灣本土中分離的大豆根瘤菌菌株中，其中SB 375及SB 682之生長世代時間分別為1.7及2.5小時，且此二菌株在酵母抽出物甘露醇培養基中會產酸，並均可利用hexoses，pentose， sucrose， trehalose 及raffinose。其中，SB 357可以抗高濃度的kanamycin(100 μg.mL^{-1})及penicillin (400 μg mL^{-1}) 且可忍耐2.34%NaCl及1031.3 mosmol.kg^{-1}(約23.4bars)的鹽濃度及滲透壓[19]。

測試6株快生型大豆根瘤菌及13株慢生型大豆根瘤菌對10種抗生素的抗葯性質，結果顯示菌株中對nalidixic acid及penicillin的最大抗葯能力分別為400 μg mL^{-1}，200 μg. mL^{-1}，而在大豆根部同時接種快生型及慢生型根瘤菌，結果發現快生型根瘤菌並不能完全取代慢生型根瘤菌，由根瘤中分析得知，由快生型根瘤菌誘發形成的根瘤約佔0～79%，此百分率隨接種菌數之比例不同而有變異[17]。

利用多基因座酵素電泳分析(multilocus enzyme electrophoresis)研究台灣本土根瘤菌*Rhizobium loti*及*Rhizobium leguminosarum*biovar.*viceae*之酯酵素，β-半乳糖甘酵素、葡萄糖六磷酸鹽去氫酵素、腺嘌呤酸激酵素、異檸檬酸鹽去氫酵素、六磷酸葡萄糖酸去氫酵素、β-羥丁酸鹽去氫酵素、六碳醣激酵素等8種代謝性酵素圖譜(metabolic enzyme profile)之特性，結果顯示*R. loti*及*R. leguminosarum* biovar. *viceal*可依據酵素電泳型個別歸類為兩種不同之群集而加以區分[3]。

4. 根瘤菌之應用

田間試驗中，接種38株不同的苜蓿，三葉草、花生、大豆等根瘤菌，結果發現產量較未接種的處理增加約210%，50%，21%，98%[21]。而在林地方面，台灣坡地多屬酸性，(pH4.68～6.06)，施用石灰並接種有效根瘤菌粉劑以種植銀合歡，觀察對土壤性質，銀合歡生長及成瘤作用的影響，結果施用石灰使土壤pH提高到7時，有助土壤鋁飽和度降低顯著增加銀合歡之乾物量，且在銀合歡生長初期，接種有效根瘤菌粉劑，可在銀合歡根部形成有效根瘤，並在植體乾物重、瘤數、瘤重及乙炔還原能力均比未接種處理為高[9，15]。

雙重接種根瘤菌及菌根眞菌到台灣本土六個試驗點，測試其成瘤作用、共生固氮作用及大豆產量。結果顯示，單獨接種根瘤菌的處理明顯增加根瘤生成、瘤重及固氮酵素之活性，而對大豆之增加產量之影響可達到134%。而單獨接種菌根菌，對成瘤作用及固氮酵素活性無顯著的影響，但對大豆產量之影響，可達65%之增產，其中只有在施用氮肥的處理中，有顯著的增加。而雙重接種根瘤菌及菌根菌，對大豆產量之影響可達145%之增產，亦即顯示不論單一接種或雙重接種根瘤菌均有助於大豆產量之提升，且可取代氮肥之利用。

5. 根瘤菌的推廣成果

大豆根瘤菌每公頃每年可固定100公斤以上的氮素，且其製造成本低廉，本研究室自本省大豆產區分離的根瘤菌中，選拔出適宜本省大豆或毛豆栽培環境所使用之菌種製成生物肥料，根據本省高雄區農業改良場77及78年度的示範觀察區產量調查結果，接種根瘤菌後公頃之合格莢產量較不接種之農民慣行區增產18%以上，增加收益每期每公頃約可收益13,000餘元。77-78年度示範推廣根瘤菌面積已是1,508公頃，可使農民的收益增加二千一百餘萬元，79年度，推廣面積則達2,060公頃以上，而到82年度經由農林廳高雄農改場及屏東縣

政府農業局佔高屏地區毛豆栽培面積的60%，農民的收益可增加約六千萬元以上，此乃有形之獲益，其他諸如減少農民施用大量化學肥料，引起土壤酸化及避免殘肥滲入土壤下層造成的地下水污染等無形之利益，功不可計。若能繼續推廣根瘤菌之應用，不但可以提高毛豆產量、品質且可減少施用氮肥及土壤酸化問題，更有利於土壤及水質之環境保護[2]。83年度屏東地區之毛豆已推廣接種根瘤菌之面積達6,000公頃，有助農民收益，及減少氮肥施用，達到減少氮肥流失污染之無形功效。

參考文獻

1. 江晃榮 1991 微生物肥料之市場調查。經濟部生物技術開發中心，台北。
2. 洪阿田、鄭榮賢、吳育郎 1990 豆類作物土壤與肥培管理研討會專集。 台灣省高雄區農改場編印 p.234-241。
3. 曾振南、華傑、楊秋忠 1993 利用多基因座酵素電泳分析研究台灣本土根瘤菌之遺傳相關性。中國農化會誌 31:120-129。
4. 楊秋忠 1993 土壤與肥料(第五版)。農世股份有限公司，台中。
5. 楊秋忠、趙震慶 1982 飼料作物之固氮研究(一)優良固氮菌之選拔及引進。「飼料作物品質改進」台灣省畜產試驗所編印 p.61-66。
6. 楊秋忠、趙震慶 1988 台灣快生型大豆根瘤菌之世代時間及對大豆共生之關係 中華農學會報 143:27-37。
7. 新興科技在台灣農業運用之可能性及其影響：小組評估報告 1987 行政院農業委員會彙編， 台北 p.200-208。
8. 趙震慶、楊秋忠 1985 不同培養基對銀合歡根瘤菌在不同石灰量土壤中存活之影響。中國農化學會誌 23:236-241。
9. 趙震慶、楊秋忠、程煒兒 1985 酸性接種根瘤菌及施用石灰對銀合歡生長與成瘤作用之影響。中華農學會報 新131:35-41。
10. 趙震慶、楊秋忠 1987 *Rhizobium loti* Nif 94A_3在不同石灰用量酸土中的移動競爭對銀合歡成瘤作用之影響。中華農學會報 新137:21-33。
11. Paul， E. A. and F. E. Clark. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press， Inc.， New York.
12. Postgate， J. R. 1982. Fundamentals of Nitrogen Fixation. Cambridge Univ. Press， London.
13. Schubert， K. R. and C. P. Wolk. 1982. The energetics of biological nitrogen fixation. american Society of Plant Physiologists， Maryland， USA.
14. Young， C. C. 1986. Effect of sanility on growth， survival， and symbiotic characteristics *Rhizobium Japonicum* Taiwan isolates. Proceedings of the National Science Council， R.O.C. 10:275-279.

15. Young， C. C. and C. H. Chao. 1982. The selection of *Rhizobium* of *Leucaena leucocephala* in Taiwan. Leucaena Research Reports. 3:70.

16. Young， C. C. and C. C. Chao. 1984. Presistence of leucaena *Rhizobium* Nif94A in Taiwan liming soil. Leucaena Research Reports. 5:68-69.

17. Young， C. C. and C. C. Chao. 1989. Intrinsic antibiotic resistance and competition in fast-and slow-growing soybean rhizobia on a hybrid of Asian and us cultivars. Biology and Fertility of Soils (Germany) 8:66-70.

18. Young， C. C.， C. C. Chao and W. E. Cheng. 1983. Effect of liming and rhizobial inoculation on the seedling growth of *Leucaena leucocephala* in the field experiment. Leucaena Research Reports 4:73-74.

19. Young C. C.， J. Y. Chang and C. C. Chao. 1988a. Physiological and symbiotic characteristics of *Rhizobium fredii* isolated from subtropical-tropical soils. Biology and Fertility of Soils (Germany). 5:350-354.

20. Young， C. C.， T. C. Juang， and C. C. Chao. 1988b. Effects of *Rhizobium* and VA mycorrhiza inoculations on nodulation， symbiotic nitrogen fixation， and yield of soybean is subtropical-tropical fields. Biolog and Fertility of Soils (Germany) 6:165-169.

21. Young， C. C.， M. H. Wu and T. C. Juang. 1982. The selection and use of *Rhizobium* in Taiwan， Food & Fertilizer Technology Center， Technical Bulletin No. 66:1-9.

表一、生物固氮作用的種類

生態類別	菌種類別	菌種例子
一、游離性		
有機營	好氣性菌	*Azotobacter*，*Beijerinckia*，*Rhizobium*
	兼性菌	*Bacillus*，*Klebsiella*，*Azospirillum*
	厭氣性菌	*Clostridium*，*Desulfovibrio*
光合營	藻綠藻	*Nostoc*，*Anabaena*，*Gloeothece*
	紫非硫化菌	*Rhodopseudomonas*，*Rhodospirillum*
	紫綠硫化菌	*Chromatium*，*Chlorobium*
二、協生性		
有機營	根圈微生物	*Azospirillum*，*Azotobacter*，*Bacillus*
	葉圈微生物	*Klebsiella*，*Beijerinckia*
三、共生性		
有機營	豆科根瘤菌	*Rhizobium*，*Bradyrhizobium*
	豆科莖瘤菌	*Azorhizobium*
	非豆科根瘤菌	*Rhizobium*
	非豆科根瘤放線菌	*Frankia*
光合營	裸子植物、鐵樹	*Nostoc*
	地衣、地錢、苔類	*Nostoc*，*Stignonema*，*Calothrix*
	水生蕨、滿江紅	*Anabaena*

表二、生物固氮酵素的作用

反應物	構造	生成物
氮 (dinitrogen)	N≡N	NH_3+H_2
乙炔 (acetylene)	HC≡CH	$H_2C=CH_2$
氰化物 (cyanide)	【C≡N】$^-$	NH_3+CH_4
丙二稀 (allene)	$H_2C=C=CH_2$	$H_2CO=C-CH_3$
疊氮化物 (azide)	$N\equiv N^+-N^-$	$N_2+NH_3+N_2H_4$
氧化亞氮(nitrous oxide)	$N\equiv N^+-O^-$	N2+NH_3
氫離子 (H^+ion)	【H】$^+$	H_2

表三、比較生物共生固氮作用及硝態肥之利用所需要的能量

生物固氮之利用		硝態氮肥之利用	
需 要 項 目	相當ATP量	需 要 項 目	相當ATP量
1.還原氮氣	18	1.還原硝態氮	24
2.氫氣放出	6	2.銨態氮同化	7
3.銨態氮同化	7	3.運　輸	3
4.運輸	5	4.根生長及維持:	58
5.根瘤生長及維持	14.5	根系量	28.8
6.根生長及維持	43.5	生 長	4
根系量	21.6	維 持	25.2
生 長	3		
維 持	18.9		
總　共	94		92

(整理自 Schubert and Wolk， 1982)

討　論

台大農化系楊盛行教授問:

1. 每公頃之接種密度多少較佳， 因文中只提每公頃接2-4L而未提.(#1ml)。
2. 根瘤菌之接種是否需要持續性接種? 或一次即可? 在持續性接種中其接種密度又如何?

中興大學土壤系楊秋忠教授答:

1. 接種劑菌數之多寡將決定接種之效果， 一般菌數愈多愈好， 但要10^6/ml以上爲佳。
2. 爲確保根瘤菌之效應， 有必要第二次以上之接種， 因爲接種根瘤菌在土壤中的殘存能力視土壤條件而定。接種菌之密度以至少要10^6/ml以上之菌量爲佳。

畜試所許福星問:

接種豆科作物時， 如何判斷要不要接種?

中興土壤系楊秋忠教授答:

田間是否接種可依不同之資料研判， 如土壤之菌數、土壤中之含氮量等因素決定， 但爲了時效及減少化學氮肥之使用， 以「爲作物買保險」的理念、以低成本之接種， 而視其需要發揮功能， 若土壤氮素過高時， 接種也無缺點。

Aapplication and Development of Nitrogen Fixing Microorganisms

Chiu-Chung Young

Department of Soil Science，National Chung Hsing University

Abstract

In N，P，K fertilizers，only N source are obtained from the air. N_2 in the air is not utilized by plants. It need to be transformed to ammonia by nitrogen fixation. Biological nitrogen fixation is a process to fix nitrogen in bacteria，acety-nomycetes，or blue-green algae. Rhizobia is a most usefull inoculant in the agriculture. The application of rhizobia inoculant can decrease the N application，fertilizer pollutions and soil acidification，and can increase the production and quality of legumes. The selection of superior microorganisms are main work for the successful inoculation. The physiological and biological studies for Taiwan rhizobia of soybean were reported in many papers.

In field experiments，results showed that productions of soybean，vegetable soybean，peanut，and leucaena were increased by rhizobial inoculation. Treatments inoculated with rhizobia in field experiments increased nodules，and nitrogenase activity，and increased soybean production up to 134%. Treatments inoculated with both rhizobia and VA mycorrhiza increased soybean productions up to 145%. Development in N_2-fixing microorganisms was studied for multi-function and multi-crops，such as P-solubilizing ability in N_2-fixing bacteria. The nodulation of non-legumes was studied primarily for rhizobial multi-inoculation.

Key words: Biological N_2-fixation，Symbiotic N_2-fixation，Associative N_2-fixation，Non- symbiotic N_2-fixation，Rhizobia

台灣土壤環境生態與根瘤菌

趙震慶
國立中興大學土壤系

摘　要

根瘤菌與豆科作物的共生作用，於今日推展永續性農耕法中，為不可缺之土壤管理或輪作程序之一。優良人工培養根瘤菌菌株在土壤生態環境中之命運及共生固氮作用受限之探討，為成功推展根瘤菌於農業生產上極重要之課題。

人工培養的國外菌株 *Rhizobium loti* 94A_3，在酸性壤土中42天後存活率約下降 1000 倍，而在 140天的銀合歡生長期中，根瘤菌移動距離約為15公分左右。與土棲性菌競爭根瘤生成之能力弱。然於酸性林地土壤中，仍有助根瘤之生成與銀合歡初期之生長。*R. fredii* 及 *Bradyrhizobium japonicum* 之生長世代時間與於根系競爭根瘤生成率及在乾土中存活率間無相關。重金屬抑制大豆根瘤乙炔還原活性，抑制力之大小因土壤種類而異。 pH 4.2 之紅壤，提升根圈 pH，有助有效性根瘤之形成。土棲性大豆與銀合歡根瘤菌對抗生素之抗藥性約高國外菌株5至30倍，殺菌劑對根瘤菌之毒性較殺蟲劑及殺草劑為強。

關鍵字:根瘤菌，土壤，生態

前　言

基於自然界氮素循環及農業生產上之觀點，根瘤菌為重要而不可缺之土壤微生物，尤其近年倡導的有機農耕法(organic farming)利用根瘤菌與豆科作物形成高固氮能力的根瘤，將大氣中氮氣變為植物所需之氮素養分，視為增加或保持土壤氮素肥力最有效方法之一(洪，王，1987)。人工培養優良根瘤菌在土壤環境的生態條件下，其命運及能否形成有效根瘤，為成功推展根瘤菌於農業生產上極重要之課題。土壤之組成包成氣，液與固體三相，而此三相在一土體中相互雜陳構成異質性(heterogeneity)棲息地，而微棲息地(microenvironment)中多種組成成分因時而異，深具變動性(dynamic nature)，此為研究土壤微生物生態最主要困難處(Metting，1992)。探討土壤環境生態與根瘤菌的報告極眾，但綜合性回顧根瘤菌與土壤環境生態的報導仍屬少見。早期 Bushby(1982)曾廣泛報導土壤礦物，離子強度，土粒吸附，土壤有機質，植物根圈，土壤 pH 及相關離子(Ca，Al，Mn)，可溶性鹽，濕度，抗旱性，土壤肥力等等因子對根瘤菌存活於土壤中之效應。隨後 Alexander (1984)亦認為需瞭解這些土壤環境生態因子對根瘤菌之刺激效應與限制因子，而評估根瘤菌在各種條件土壤中之存活率及於相對應豆科植物根系成瘤能力。Bottomley(1992)更廣泛依土壤，宿主及基因工程等方面探導土壤環境生態因子對根瘤菌之正、負效應。本報告僅依近十年以來，作者所撰有關台灣土壤環境因子對根瘤菌之影響，綜合敘述於後，疏漏謬誤之處，尚祈各先進，學者及專家不吝指正。

石灰用量對根瘤菌存活之效應 (趙，楊，1985)

將銀合歡根瘤菌 *Rhizobium loti* Nif 94 A_3 接入自然土壤中，於不同採樣期依螢光抗體染色法(fluorescent antibody method)測數菌數結果如表一。接種後第二天，土壤中的菌數，減少5至8倍，其原因可能係因根瘤菌具有細胞外多糖(extracelluar polyaccharide)含有 D-glucuronic acid，D-galacturonic acid，glucans 等成分，這些成分因氫鍵或二價離子，易被土壤黏粒吸著，同時所用的螢光顯微鏡係穿透式光源，土粒上下兩側吸收的根瘤菌無法顯像。其次部份菌體可能因土粒的吸附作用，在靜置的一小時中，沉降到下層土懸液中，減少上層土懸液的菌數。不接種的兩個對照土壤，染色後亦有菌體呈黃綠色螢光，歸屬正反應，顯示新化土壤中含有與 *R. loti* Nif 94A_3相同血清型(serotype)的銀合歡根瘤菌。

在42天培養期中，各採樣期土壤中呈正反應的細胞數之變化如表一所示，人工培養的根瘤菌，在接種於自然土壤中後，菌數隨時間增加而減少，在42天中，約下降 1000～2000 倍。其次接種處理的螢光染色正反應細胞數，下降的比率，隨時間增加而減緩，在第一週中菌數變化較爲激烈，此可能因菌懸液中，含有死亡菌體，在自然土壤中 1～2 週即會消失，或可能因接種菌數過多，土壤養分供應不足所致。

其次以同一培養基所培養的 *R. loti* Nif 94 A_3，接入 pH 6.60 高石灰(1.0g 石灰/公斤 風乾土，C_1)及 pH 5.4 低石灰(0.1 g石灰/公斤 風乾土，C_2)用量土壤中(表一)，觀察每克乾土中存活呈正反應的細胞數，對 Vincent 氏培養基所培養的 *R. loti* Nif 94 $A_3(R_1)$而言，在 C_1 土壤中第七天的存活率爲第二天的34.16%，而在 C_2 土壤爲10.12%，相差三倍，14天到28天的三次測值，R1 在兩種不同石灰用量土壤中存活率近似無差別。再以 Cassman 等氏培養基培養的*R. loti* Nif 94 $A_3(R_2)$，接入低石灰用量土壤中(C_2)，其第7，14，21，28天對第二天的存活率，依次爲11.17%，4.75%，2.39%及0.5%，比接入高石灰用量土壤中(C_1)的存活率，依次爲6.6%，0.96%,0.26%及0.13%，高2～10倍，顯示 pH 5.35 以半乳醣爲碳源的 Cassman 等氏培養基所培養之 *R. loti* Nif 94 A_3，在 pH 5.4 的土壤中存活率較高。

上述結果顯示，人工培養基中所含的碳源及 pH，可能會影響到 *R. loti* Nif 94A_3 在不同 pH 及石灰用量土壤中的存活率。如培養基所用碳源及 pH 能配合土壤 pH，將可能增加根瘤菌在土壤中的存活率，而增加有效根瘤的生成。因此在製備根瘤菌接種用粉劑時，培養根瘤菌所用的培養基中的碳源與 pH，應與土壤的理化性質，特別是土壤的酸鹼性配合。

R. loti Nif 94A_3 在施石灰土壤中的移動 (趙及楊，1987)

人工培養的根瘤菌在土壤中的移動性，可由鑑定接種菌系在豆科植物根系上的根瘤，而查知其移動的能力。*R. loti* Nif 94A_3 在新化加石灰土壤中移動的情形列於表二。人工培養根瘤菌 *R. loti* Nif 94 A_3，接種到高石灰用量(1 g石灰/Kg 土)土壤中(C_1)，在0-15 cm 以內*R. loti* Nif 94 A_3所佔根瘤數的百分率最高爲 16.30 至 10.90，隨距離增加而減少，在15公分以上，僅有0.5%近似於對照組，可視爲土生性菌感染生成的根瘤。相同的在低石灰用量(0.1g 石灰/Kg土)土壤中(C_2) 之移動，在 0-5 公分，*R. loti* Nif 94A_3 菌株所形成之根瘤佔總瘤數之22.87 %，依次漸

減，當距接種位置15公分以上時，僅有3.58％。由此項結果可以瞭解，在140天植期中銀合歡根瘤菌，在土壤中移動之距離，至少在10公分左右，最遠或可達15公分以上，但大多數均在15公分以內。銀合歡 K8 品系在二種石灰用量土壤中，140天內根系生長可達30公分以上，而生長於兩種不同培養基之根瘤菌 *R. loti* Nif 94A_3，在此兩種石灰處理的土壤中，最遠僅在10-15公分根系內形成根瘤菌，顯示此菌在土壤中移動速率不及根的生長速率，或菌種繼續繁殖移動不佳，因此在田間種植銀合歡後，需要再做二次接種，以利增進銀合歡根圈上有效根瘤菌，而形成高固氮的根瘤。

根瘤菌在土壤中之競爭作用 (趙、楊，1987;Young and Chao，1989)

快生型大豆根瘤菌(*Rhizobium fredii*)與慢生型大豆根瘤菌(*Bradyrhizobium japonicum*)在土壤中競爭生成根瘤之比例如表三，結果顯示各組根瘤菌之間的競爭能力因相互配對而異。快生型根瘤菌(SB 357，SB 651，SB 653)並不能排除慢生型根瘤菌(SB 54，SB 138，SB 212，SB 563及USDA 110)形成根瘤。*R. fredii* 與 *B. japonicum* 相互競爭下，快生型根瘤菌 *R. fredii* 約形成 0-79％的根瘤，依接種所用之菌株而異。同時顯示，在培養基中生長世代時間之長或短，並不能顯示根瘤菌競爭根瘤形成能力之強與弱。

人工培養之 *R. loti* Nif 94 A_3，接種到種植銀合歡的新化施石灰土壤中，於植後140天，以酵素聯繫抗體法(ELISA)鑑定根瘤中抗原，以決定人工培養的外來菌系 *R. loti* Nif 94 A_3，與土壤中原有的土生性菌系間的競爭力。結果列於表二，在高石灰用量土壤中(C_1)，接種 *R. loti* Nif 94 A_3 的處理成瘤率，分別為 9.68％及 5.79％，在低石灰用量土壤中(C_2)，依次為 10.04％及9.08％。顯示以人工培養基的 *R. loti* Nif 94 A_3，在低石灰用量土壤中競爭力較佳，但接種處理間無顯著差異。對照處理的成瘤率，在高及低的石灰用量土壤中依次為0.69％及0.17％，而兩者之間無差異，但與接種處理相比，差異顯著。由上述結果顯示*R. loti* Nif 94 A_3 在新化加石灰的土壤中，對成瘤位置的競爭力不強，可能與此菌是美國引進而對本省土壤環境之不適應性有關。

石灰用量對田間接種根瘤菌之效應 (趙等，1985)

豆科植物接種根瘤菌，以求獲得生物共生固氮之利益，為研究根瘤菌主要目的之一。本研究田間種植的銀合歡係接種美國 NifTAL 所贈送之根瘤菌粉劑，其效果如表四所示。在植後50天採樣，接種處理的植體乾物重，在相同石灰用量下均大於不接種處理，顯示在本試驗之林地，雖然土壤 pH 僅5.4，交換性鋁為 30.5～176.0 $\mu g\ g^{-1}$ 土，鋁飽和度為 7.15～11.97％，而所接種之根瘤菌，對銀合歡之生長仍有所助益，顯示在此種土壤情形下的 pH 及鋁離子濃度對根瘤之成瘤作用並沒有發生抑制作用。在施石灰三處理中，雖接種處理每株乾體重均較不接種處理為重，然未能達到顯著差異。

有關接種根瘤菌對銀合歡成瘤作用之影響如表四所示，植後50天接種根瘤菌的處理，均能產生根瘤，其瘤數、鮮瘤重及乙炔還原能力等，在石灰每公頃5及10噸情形下最佳(pH 依次為

7.12及7.14)，與不接種處理相比，達顯著差異。而不施石灰及施石灰15噸的兩處理(pH 為7.33)，雖瘤數、鮮瘤重及固氮能力均優於不接種處理，但統計上不顯著。由施石灰與否比較，顯示石灰有助鮮瘤重增加。據前人研究，銀合歡只有銀合歡根瘤菌，始能使其形成根瘤。然由前述結果可知試區土壤中仍存有少量土生性銀合歡根瘤菌，由於寄主植物的種植與成長，而漸漸活躍在銀合歡根系，慢慢開始形成有效性根瘤。試驗用地土壤pH為5.46(部份小區土壤 pH 更低至4.7),但接種劑中的根瘤菌仍然與寄主形成有效根瘤,顯示銀合歡根瘤菌在 pH 5 左右的土壤中仍具有成瘤能力。綜合上述銀合歡能在本省 pH 5.4以上之酸性林地土壤中生長成瘤，施用石灰與接種有效性根瘤菌有助銀合歡之固氮作用及植體生長。

根瘤菌在風乾土中之存活 (趙，趙，1988)

根瘤菌接種到風乾壤土中九天後的存活率如表五，顯示各菌株之間耐旱能力差異很大。其中耐旱力較強之菌株如 *R. meliloti* 102 F34，*R. fredii* SB 136，及*R. loti* LU 66，存活率自1.20至7.91%，而耐旱力較差之菌株如 *B. japonicum* USDA 138等存活率小於0.01%。同時由亞熱帶及熱帶的台灣土壤中所分得之根瘤菌(*R. fredii* SB 99，SB 136及SB 439，*R. loti* Lu 15，Lu 66及Lu 193)在耐旱力上並無明顯高於溫帶土壤所分得菌株(*B. japonicum* USDA 138，*R. phaseoli* 6-3，*R. meliloti* 102 F 34及*R. leguminosarum* 128 C 53)之特徵。

在酵母抽出物甘露醇培養液中，所用菌株除 *B. iaponicum* USDA 138屬慢生型根瘤菌外，其餘九個菌株均屬快生型大豆根瘤菌，其中由台灣土壤所分得之大豆根瘤菌*R. fredii* SB 99，SB 136及SB 439均為快生型大豆根瘤菌。由本研究結果(表五)看來，世代之間同為2小時之*R.phaseoli* 6-3之存活率＜0.01%，而 *R. loti* Lu 66且為1.20%，亦顯示出培養基中的世代時間與在風乾土壤中之存活率無關。

不同土類、重金屬及VA菌根菌對固氮作用之效應 (趙，王，1991)

大豆播種於不同濃度重金屬之三種供試土壤中，接種根瘤菌後，於始花期收穫，測定大豆乙炔還原活性分別列於表六。除少部份處理外，乙炔還原活性隨重金屬之添加及濃度之漸增而遞減。供試之六種重金屬中，鉛對大豆乙炔還原活性抑制力較弱，而鉻、鎘之抑制力較強。依所用本省西部三種主要耕地土類之土壤而言，使用大豆根瘤菌接種劑，在砂頁岩沖積土之大里系與紅壤之平鎮系二種土壤所顯現之固氮作用效果頗佳，然在粘板岩沖積土之二林系土壤所顯現之效果頗差。施用 VA 菌根接種劑之各處理，不論是否添加重金屬，固氮作用之三項特徵，在所用三種試驗土壤中，均優於未施用 VA 菌根菌接種劑之各處理。平鎮系低 pH 之紅壤，沒施用 VA 菌根菌接種劑之各處理，雖均曾同樣接種根瘤菌，但均無根瘤形成。屬於粘板岩沖積土之二林系壤土，乙炔還原活性均低於砂頁岩沖積土之大里系壤土及施用 VA 菌根菌接種劑的紅壤之平鎮系粘質壤土，可能係因二林系土壤有效性磷含量(白雷氏一法磷 24.3 mg/Kg土)較低。屬於紅壤之平鎮系土壤，沒接種 VA 菌根菌接種劑之各處理均沒形成根瘤，係因平鎮系土壤呈強酸性(pH 4.2)，所用之根瘤菌於此種土壤中不能形成根瘤，但所用 VA 菌根菌接種劑係

以大里系微酸性土壤添加鹼性之attapulgite礦物配製，根瘤菌液直接施用到 VA 菌根菌接種劑中，根瘤菌所觸及之微域呈中性，故根瘤形成未受影響而具固氮活性。

根瘤菌之抗藥性 (趙，1987)

(一)對抗生素

自六十個土壤所分得之大豆及銀合歡根瘤菌，在含各不同濃度單一抗生素的酵母抽出物甘露醇洋菜(YEMA)平面培養基上存活分離株數(表七)，因抗生素的種類及菌種的不同而異。大豆根瘤菌，在含青黴素(penicillin)的 YEMA 培養基上的存活率最高，有95.3%的分離株，對青黴素具有抗性，而在含利福平(rifampicin)培養基上的存活率最低，僅46.5%的分離株能存活。銀合歡根瘤菌，亦以在含青黴素培養基上 40.9%的存活率最高，以含康黴素(kanamycin)培養基上 7.3%的存活率最低。無論在那一種含抗生素的培養基上的存活率，大豆根瘤菌均高於銀合歡根瘤菌。其次在含500至4000 μg/ml 各抗生素最高濃度的培養基上，銀合歡根瘤菌在含康黴素、鏈黴素(streptomycin)、四環素(tetracycline)及利福平四種抗生素培養基上均不生長，而大豆根瘤菌仍有5.1至9.3%分離株能生長。於含其餘三種抗生素的培養基上，銀合歡根瘤菌雖均能生長，但比例低於大豆根瘤菌。結果顯示大豆根瘤菌對七種抗生素之抗藥性大於銀合歡根瘤菌。

七種抗生素對兩種根瘤菌生長的抑制力，以康黴素及四環素較強，而青黴素較弱。對抗藥性較強的大豆根瘤菌而言，在1000至4000 μg/ml 高濃度下，抑菌力強的抗生素，如康黴素及四環素，僅5.1%至9.3%的分離株可存活，而抑菌力弱的青黴素，雖濃度高達 2000 μg/ml，仍有64.9%的分離株存活。土棲性銀合歡根瘤菌(表七)亦有相同的趨勢。

依上述結果，自大豆及銀合歡根瘤菌中，依次分選67株及16株抗藥性最強的根瘤菌，以含1000 μg/ml抗生素的液體YEM培養基培養，分別按 Wacek 及 Brill 法接種栽植，於6至8週後測乙炔還原力，顯示經含抗生素液體培養基培養後的83個分離株(每種抗生素測10～15個分離株)，均能形成有效根瘤及固定氮氣，其中21株分離株減少固氮力，25株增加固氮力，37株沒變化。

(二)對農藥

根瘤菌以含有田間推薦使用濃度之六種農藥的培養基培養時，除大生 M45(dithane M45)外，其餘五種農藥對根瘤菌之毒性均低，菌之存活率均在78.4%以上(表八)。其中含納乃得(lannate)及安殺番(thiodan)兩種殺蟲劑的培養基，根瘤菌的存活率高達93.1%以上。僅殺菌劑大生 M45 對根瘤菌之毒性較強，雖有23.6%以上的存活率，但存活菌的生長均不良。結果顯示此六種農藥，尤其是殺蟲劑及殺草劑對此二類根瘤菌均無高毒性。銀合歡根瘤菌對農藥的抗力，均比大豆根瘤菌爲弱，但相差不大，除含三泰芬(beyleton)的培養基兩類菌差達15.4%以外，其餘五種農藥相差3.5%以內，尤其是殺蟲劑幾無差異。結果顯示所用之六種農藥對兩類菌的毒性，並不會因菌種(species)而有明顯的差異。台灣中、南部屬熱帶氣候地區，高溫多雨，農藥使用頻率較溫帶或落後熱帶國家爲高，雖大多數的農藥對根瘤菌的毒性很小，但如大生 M45或益穗(thiram)等殺菌劑的毒性仍然很強，又爲水稻的常用農藥，故土棲性根瘤菌高耐藥性之生成，殺菌劑高頻率施用，或許是原因之一。

(三)水田與林地中根瘤菌抗藥性之差異

試驗所用之銀合歡根瘤菌，分別來自台灣水田及森林土壤，農藥之使用量與頻率，林地遠少於水田土壤。兩種土壤中銀合歡根瘤菌之耐高濃度抗生素菌株的百分率，顯示水田土壤均高於森林土壤(表九)，除四環素的抗藥性菌株百分率，在兩類土壤的比例爲1:1.5外，其餘六種抗生素的百分率相差二倍以上，例如水田土壤分得之分離株，有34株能耐100 μ g/ml以上濃度的紅黴素(erythromycin)，佔水田分離株的20.4%，而森林土壤中的86株分離株都不能生長。此種現象之生成可能係因本省水田所用農藥中包括抗生素，同時飼養家畜禽的飼料中常含有抗生素，因施用廄肥於田間而將殘餘抗生素導入水田，因此土棲性根瘤菌，在土壤生態環境的選擇壓力(selection pressure)下，將會造成高抗藥性變異株。同時根瘤菌的抗藥基因係存在質體(plasmid)上，格氏陰性菌的質體可在不同菌屬(genera)或菌種(species)間自由轉移，此種轉移已證實可在添加養分的土壤中進行。而根瘤菌質體發生變異之頻率(mutation frequency)，對*R. trifolii* 爲 3.3×10^{6} 到 7.6×10^{7}，而百脈根(*Lotus sp.*)根瘤菌對青黴素的變異頻率爲1.0×10^{-5}。筆者曾測得台灣土壤中土棲性銀合歡根瘤菌，每克土壤中含10^{5}以上的菌細胞，每公頃表土以 2×10^{6}公斤估算，每公頃土壤含銀合歡根瘤菌數可達10^{14}以上，則每公頃土壤變異株發生率在10^{7}至10^{9}之間，復加長年累月的累積效果，及受人、畜移動之污染，及前述如大生 M45 等殺菌劑的效應，或可造成台灣土棲性根瘤菌對抗生素具有高抗藥性。

結　　論

台灣土壤生態環境與溫帶地區迥異，土棲性根瘤菌所承受之生態環境的選擇壓力(selection pressure)勢必相異。

人工培養銀合歡根瘤菌於酸性土壤中42天後，菌數約下降10^{3}倍。培養基 pH 能與土壤 pH 相近，有助根瘤菌之存活及有效性根瘤之生成。*Rhizobium loti* Nif 94 A_3在種植銀合歡K_8品系之土壤中，140天的移動距離約爲15公分左右，較根系生長速率爲慢。在酸性土壤中競爭根瘤形成能力弱於土棲性根瘤菌。於 pH 5.4的酸性森林土壤中，接種根瘤菌有助銀合歡樹苗之生長及增進固氮作用。*R. fredii* 及*Bradyrhizobium japonicum* 在土壤中之競爭生成根瘤之能力及風乾土壤中存活率與菌株本身特性相關，與其在 YEM 培養基中生長世代時間無關。大豆根瘤之乙炔還原活性，於所測試三類相異之土壤中，皆隨重金屬施用量增加而減少，減少程度因土壤與重金屬種類而異。強酸性紅壤(pH 4.2)改善根圈pH後，則具共生固氮能力。台灣土棲性根瘤菌對抗生素之抗藥性高於國外菌株5至30倍，殺菌劑之毒性高於殺蟲劑及殺草劑，根瘤菌此種抗藥性可能因台灣農田施用農藥頻度較高所造成。

參考文獻

1. 洪崑煌、王銀波 1987 有機農業。P.229-237. 行政院農業委員會彙編，新興科技在台灣農業運用之可能性及其影響小組評估報告。農委會，台北。

2. 趙震慶、楊秋忠 1985 不同培養基對銀合歡根瘤菌在不同石灰用量土壤中存活的影響。中國農業化學會誌 23:236-241。

3. 趙震慶、楊秋忠、程煒兒 1985 酸土接種根瘤菌及施用石灰對銀合歡生成與成瘤作用之影響。中華農學會報 新 131:35-41。

4. 趙震慶 1987 台灣土生性根瘤菌之抗藥性質。中國農業化學會誌 25:308-317.

5. 趙維良、趙震慶 1988 根瘤菌在乾燥土壤環境中存活的機制。 中華農學會報 新 144:41-52。

6. 趙震慶、楊秋忠 1987 *Rhizobium loti* Nif 94A_3 在不同石灰用量酸土中的移動與競爭對銀合歡成瘤作用之影響。中華農學會報 新 137:21-33。

7. 趙震慶、王銀波 1991 重金屬於台灣主要土類之土壤中對囊叢枝菌根與大豆固氮作用之影響。中國農業化學會誌 29:290-300。

8. Alexander,M. 1984. Ecology of *Rhizobium*. P.39-50, *In* M. Alexander (ed.), Biological nitrogen fixation, Plenum Press, New York.

9. Bottomley, P.J. 1992. Ecology of *Bradyrhizobium* and *Rhizobium*. P.293-348, *In* G. Stacey etal. (ed.) Biological nitrogen fixation. Chapman & Hall, New York.

10. Bushby, H.V.A. 1982. Ecology, P.35-75, *In* W.J. Broughton(ed.) Nitrogen fixation Vol. 2 Rhizobium, Clarendon Press, Oxford, Great Britain.

11. Metting, F.B. 1992. Structure and physiological ecology of soil microbial communities. P.3-26,*In* F.B. Metting(ed.) Soil microbial ecology, Marcel Dekker, Inc.,New York.

12. Young, C.C.,and C.C. Chao. 1989. Intrinsic antibiotic resistance and competition in fast-and slow-growing soybean rhizobia on a hybrid of Asian and US cultivars. Biol. Fertil. Soils 8:66-70.

表一、培養於不同培養基的 *Rhizobium loti* Nif 94 A_3在不同石灰用量非殺菌土壤中的存活細胞數
Table 1. Cell numbers of *Rhizobium loti* Nif 94 A_3 in different media cultured in the nonsterilized liming soil

Treatment	Days after inoculation					
	2	7	14	21	28	42
	Positive cells no. of FA stain $x10^6$g dry soil					
C_1 R_1[1]	1083 c[2]	370 a	66.8a	30.4 a	6.70a	1.05a
C_1 R_2	1891 a	125 c	18.2c	5.0 c	2.50c	0.40a
C_1 CK	0.65e	0.45e	0.3c	0.3 d	0.25d	0.20a
C_2 R_1	780 d	79 d	49.9b	18.7 b	4.85b	0.75a
C_2 R_2	1566 b	175 b	74.4a	37.5 a	8.05a	0.85a
C_2 CK	1.05e	0.95e	0.3c	0.45d	0.20d	0.15a

1. C_1, liming acid soil increase soil pH to 6.60; C_2, liming acid soil increase soil pH to 5.4; R_1, Rhizobium loti Nif 94 A_3 cultured in Vincent\`s medium, the cell no. of inoculated in the soil is $6.2\pm.3x10^9$/g dry soil; $R_2$, Rhizobium loti Nif 94 $A_3$ cultured in Cassman\`s medium, the cell no. of inculated in the soil is $10\pm0.5x10^9$/g dry soil; CK, non-inoculated.
2. Valued within the same columns followed by a different letter are significantly different (P=0.05 Duncan\`s multiple range test).

表二、*Rhizobium loti* Nif 94 A_3在土壤中之移動與競爭
Table 2. Movement and competition of *Rhizobium loti* Nif 94 A_3 in soils

Treatment	% 94 A_3 nodules	% 94 A_3 nodules of distance from inoculation site			
		0-5 cm	5-10 cm	10-15 cm	over 15 cm
C_1[1] R_1	9.68 a[2]	16.30±14.87	11.77±5.20	10.90±2.51	0.50±0.87
C_1 CK	0.69 b	0	0.57±0.98	0	1.43±1.29
C_2 R_1	10.04 a	22.87±11.17	16.13±1.63	6.73±5.83	3.58±4.56
C_2 CK	0.17 b	0	0.57±0.98	0	0

1. and 2. See Table 1. footnote 1. and 2.
3. Mean ±S.D. (three replications)

表三、快、慢生型根瘤菌於土壤中對高雄8號大豆根瘤形成之競爭作用

Table 3. Competition between fast-growing rhizobia, *Rhizobiumu fredii*, and slow-growing rhizobia, *Bradyrhizobium japonicum*, for nodulation of *Glycine max*. cv. Kaohsiung-8 planted in soil

Inoculum strain		Soil	
Resistance to antibiotic	Sensitive to antibiotic	Total nodules	% Nodule occupancy by the resistant strain
R. fredii	*B. japonicum*		
SB 357	SB 138	25	80.1
SB 357	SB 563	18	0
B. japonicum	*R. fredii*		
SB 54	SB 653	22	36.7
SB 212	SB 651	13	100
R. fredii	*R. fredii*		
SB 357	SB 651	15	64.4
SB 357	SB 653	11	0
B. japonicum	*B. japonicum*		
SB 212	SB 54	19	0
SB 212	SB 583	27	65.0
SB 212	USDA 110	34	78.6
SB 562	SB 563	20	0

表四、田間施用石灰及接種根瘤菌之效應

Table 4. The effects of rhizobia inoculation and liming in the field experiment

Lime application tons/ha	Plant dry wt g/plant	Nodule number/plant	Fresh nodule wt. mg/plant	C_2H_2-reduction μM/hr/plant
With inoculation				
0	0.344 bc[1]	5.1 ab	36.8 ab	0.088 abc
5	0.581 ab	8.3 a	60.3 a	0.205 a
10	0.579 ab	7.3 a	48.4 a	0.173 ab
15	0.632 a	3.4 ab	24.3 ab	0.066 bc
Without inoculation				
0	0.260 c	0.0 b	0.0 b	0.0 c
5	0.340 bc	0.2 b	2.4 b	0.023 c
10	0.542 ab	0.4 b	2.2 b	0.009 c
15	0.563 ab	0.0 b	0.0 b	0.0 c

1. Values followed by a different letter are significantly different (P=0.05, Duncan`s multiple range test)

表五、根瘤菌在風乾土壤中的存活率
Table 5. Survival of rhizobia in air drying soil.

Strains	Generation time (hr)	No. at 0 day $\times 10^6$ CFU/g dry soil	Survival %
Bradyrhizobium japonicum USDA 138	5.4	5.0	<0.01
Rhizobium fredii SB 99	1.1	1.6	0.11
R. fredii SB 136	1.7	6.7	2.93
R. fredii SB 439	1.4	7.8	<0.01
R. loti Lu 15	2.4	18.0	0.34
R. loti Lu 66	2.0	40.0	1.20
R. loti Lu 193	1.0	16.0	<0.01
R. phaseoli 6-3	2.0	17.0	<0.01
R. meliloti 102 F 34	2.2	30.0	7.91
R. leguminosarum 128 C 53	1.1	3.6	<0.01

表六、重金屬與VA菌根對不同土壤之大豆根瘤乙炔還原活性之影響

Table 6. The infuence of heavy metals and VA mycorrhizae on the acetylence reduction activity of soybean nodule in different soils

Treatment of heavy metals		C_2H_4 production					
Kind	Level	Erhlin		Tali		Pinchen	
	mg/kg soil	I*	N	I	N	I	N
		-n mole/hr. plant-					
Control	0	79	51	922	208	178	0
	LSD5%	28		434		85	
Cd	5	24	11	743	184	61	0
	25	10	0	305	0	60	0
	125	0	0	0	0	42	0
	LSD5%	21		343		59	
Ni	5	31	26	714	353	186	0
	25	44	15	232	101	57	0
	125	50	0	122	0	33	0
	LSD5%	44		397		68	
Cu	10	19	13	859	687	188	0
	50	10	11	546	336	111	0
	250	0	0	144	0	85	0
	LSD5%	20		352		87	
Zn	20	68	61	814	258	81	0
	100	41	0	331	0	55	0
	500	10	0	116	0	0	0
	LSD5%	47		406		58	
Pb	20	38	52	89	553	210	0
	100	40	38	826	784	66	0
	500	10	10	240	0	35	0
	LSD5%	46		535		60	
Cr	10	35	14	966	357	303	0
	50	21	0	280	205	75	0
	250	-**-		0	0	0	0
	LSD5%	39		574		67	
	LSD5%	49		612		89	

* I: With VAM inoculation; N: Without VAM inoculation.

** The seedings died after germination.

表七、台灣土棲性根瘤菌對不同濃度抗生素之抗性

Table 7. Intrinsic resistance of Taiwan indigenous rhizobia to different concentrations of antibiotics.

Antibiotics		Number of isolates surviving							
		0	50	100	250	500	1000	2000	4000
		---------- μg/ml ----------							
Ampicillin	S[1]	55	n.d.[2]	60	45	25	83	180	n.d.
	L	200	n.d.	21	6	7	8	17	n.d.
Penicillin	S	21	n.d.	31	20	20	66	292	n.d.
	L	153	n.d.	25	16	17	23	25	n.d.
Kanamycin	S	224	68	52	43	21	32	10	n.d.
	L	240	4	2	9	4	0	0	n.d.
Streptomycin	S	169	n.d.	88	n.d.	85	58	27	23
	L	212	n.d.	30	n.d.	5	7	5	0
Tetracycline	S	194	113	82	38	10	13	n.d.	n.d.
	L	173	58	22	6	0	0	n.d.	n.d.
Erythromycin	S	74	30	53	42	107	144	n.d.	n.d.
	L	187	38	10	8	14	2	n.d.	n.d.
Rifampicin	S	241	62	69	17	23	38	n.d.	n.d.
	L	208	18	13	11	9	0	n.d.	n.d.

1. S : Soybean rhizobia, inclnding *Bradyrhizobium japonicum* and *Rhizobium fredii*. L: Rhizobia belonged to *R. loti* with *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit as host plant.

2. n.d.: not done.

表八、 農藥對根瘤菌存活率之影響

Table 8. Effect of pesticides on the survival of various indignous rhizobia

Pesticides	Concentration[1] ppm		Survival[2] %
Lasso	2150	S3	81.1
		L	78.4
Stomp	1000	S	86.9
		L	83.4
Dithane M45	1750	S	25.1
		L	23.6
Beyleton	83	S	98.9
		L	83.4
Lannate	450	S	99.3
		L	98.1
Thiodan	350	S	93.8
		L	93.1

1. Calculated from racommended concentration.

2. Total no. of soybean and leucaena rhizobia tested were 450 and 259, respectively.

3. See Table 7. footnote 1.

表九、稻田與林地土壤中銀合歡根瘤菌高抗藥性分離株百分數

Table 9. Precent of resistance of leucaena rhizobia isolated from paddy and forest soils to high levels of various antibiotics

Antibiotics	Concentration μg/ml medium		Precent of resistants1
Ampicillin	500-2000	P[2]	15.6
		F	7.0
Penicillin	500-2000	P	32.3
		F	12.8
Kanamycin	250-500	P	7.8
		F	0
Streptomycin	500-2000	P	8.8
		F	4.7
Tetracyclin	100-250	P	10.8
		F	7.0
Erythromycin	100-1000	P	20.4
		F	0
Rifampicin	250-500	P	11.4
		F	1.2

1. Total no. of isolates from paddy soils and forest soils were 167 and 86, respectively.
2. P: Rhizobia isolated from paddy soils, F: Rhizobia isolated from forest soils

討　論

台大農化系楊盛行教授問:

1. 根瘤菌之移動，是平面之移動或深度之移動?
2. 根瘤菌之移動是否會因灌溉水而影響?

中興大學土壤系趙震慶教授答:

1. 係依半球體評估移動距離。
2. 應會因水分向下或平行移動。

Soil Environmental Ecology of Rhizobia in Taiwan

Chen-Ching Chao

Department of Soil Science, National Chung Hsing University

Abstract

One of most important process of crop mangement in rotation system of organic agriculture was the symbiosis of rhizobia with legume. The fate of effective *Rhizobium* strain and the limitation of symbiotic nitrogen fixation in soil environment were very serious topics for successful extension rhizobia to apply in the agricultural production. The effect of soil environment on the rhizobia in Taiwan was summarized as follow:

The cell numbers of *Rhizobium loti* Nif 94A_3 declined with increasing incubation time in an acid soil and after 42 days the cell numbers declined about 10^3. During 140 days growth period of *Leucaena leucocephala*, the movement of inoculated *R. loti* Nif 94A_3 in liming soils was only 10-15 cm. The competition of *R. loti* Nif 94A_3 with indigenous rhizobia was very weak in an acid soil. But, leucaena seed inoculated with *R. loti* Nif 94 A_3, those processe increased the biomass of leucaena and nitrogen fixation of nodule at initial growth stage of leucaena in an acid soil. The generation time of *R. fredii* and *Bradyrhizobium japonicum* in YEM medium, did not relationship with competition in nodulation of soybean and survival in dry soil. The acetylene reduction activity decreased with increasing the concentrations of Cd, Ni, Cu, Zn, Pb or Cr in three unsterilized soils. The decreased rations depended upon the kinds of heavy metals and soil groups. Increased the rhi-zosphere pH of soybean, this process promoted effective nodulation in a red soil with pH 4.2. The indigenous rhizobia isolated from Taiwan soils generally tolerate higher concentration of antibiotics than strains isolated from other areas of the world. The toxicity of fungicide on rhizobia was more higher than that of pesiticide and herbicide.

Key words : Rhizobium, Soil, Ecology

根瘤菌與豆科宿主的關係

宋樹群[1]　林良平[2]

[1] 私立長庚醫學院分子細胞科
[2] 國立台灣大學農業化學系

摘　要

根瘤菌與豆科宿主形成具固氮能力之根瘤，有關此一反應於1888年確立至今已逾百年，根瘤菌感染豆科宿主的過程已具大致的形式，但其細部的反應仍爲假說的階段。有關二者間的關係早期係經由交互接種的方式確定菌種的分類地位，進而予以命名，也於此結果得知專一感染的現象。1974年確定學名者計有六種，此後關於根瘤菌命名方法重新修改目前關係較接近者計有三屬。對於專一感染的機轉曾有"凝集素--多醣體辨任假說"解釋此一現象，此一假說中認爲豆科宿主的根毛表面分泌的凝集素與菌體分泌之細胞外多醣體間具專一辨認的反應，藉此反應建立菌體與宿主間的橋樑，達到專一感染的目的，惟此反應無法獲得直接的證據且有許多相異之結果被發表，因此該假說無法支持說明專一感染的現象。近年發現根瘤菌會受到植物根分泌物中屬於黃素的化合物誘導，使菌體分泌出一些寡醣，目前咸信類黃素及寡醣爲訊號化合物，藉這些化合物間的差異誘使結瘤基因開啓，使能進行感染的反應，所以，現今根瘤菌與宿主間關係的研究，除了以交互感染確立最佳感染結果外，並需經由更多的反應及不同的技術，如免疫化學、基因工程及其他方法，方能更進一步推測二者間可能的專一關係。

關鍵字：*Rhizobium*、豆科植物、凝集素、多醣體、類黃素、nod 基因

前　言

豆科植物爲植物中相當重要的一種植物，其範圍包含草本及木本植物，可再分爲Mimosoidae、Casealpinoideae 及Papilionoideae 等三個亞科。一般作爲作物的豆科植物多爲草本性，可提供爲牧草及雜糧等經濟效益，並且可被混合至土壤中當作綠肥，供給其他作物所需的養份，減少化學肥料的需求；同時增加土壤有機質的含量，有助於改良土壤物理化學的性質，爲一具多功能性的生物性肥料。

土壤中氮的循環，除來自動物糞便，動、植物及微生物殘體之分解，及其他許多來源外，其中相當重要的一種爲微生物固氮作用，此一作用係微生物之固氮酵素將空氣中游離的氮氣 (N_2) 轉變成植物可直接利用的氮素 (NH_4^+)。此一反應可分爲游離性 (free-living) 固氮作用，及共生性(Symbiotic)固氮作用。兩者間的差異據估計游離性固氮作用約1Kg N ha^{-1} $year^{-1}$左右，但共生性固氮作用可達300Kg N ha^{-1} year-1以上[1]。由此可知共生性固氮作用之重要性。因其可直接提供植物所需NH_4^+-N，亦爲優良的生物肥料。

植物與微生物間的共生現象，主與係探討互利共生的表現，即植物提供微生物行固氮作用所需的碳源，而微生物固氮後提供植物氮素。此一共生固氮現象，目前觀察的結果均在根瘤中

進行。豆科植物目前已知的約 7,540 屬，16,000 至19,000 種植物中，只有 15% 被測定可形成根瘤，主要的屬Mimosoidae及Papilionoideae兩種亞科的植物[2-4]。

根瘤菌感染豆科宿主結瘤的反應，經實驗觀察的結果顯示，二者間存專一感染的表現，因此本文就根瘤菌分類、凝集素與多醣體反應及 nod 基因等項分別討論之。

根瘤菌的分類

根瘤菌自1888年被Beijerinck分離，於1889年被命名爲*Rhizobium*，至今已有百餘年之歷史。其分類早期係經由交互接種(cross-inoculation)的結果，另配合生理生化之反應而加以分類命名。所謂交互接種爲自某一豆科植物根瘤中所分離之根瘤菌，除再接種於原分離之植物外，同時與其他不同種的豆科植物接種，由產生根瘤與否確定該根瘤菌與宿主之感染關係。如自大豆(Soybean, *Glycine max.* L.)根瘤分離之根瘤菌除接種大豆外，另接種至*Vicia*、*Phaseolus*、*Medicago*及其他豆科植物，由此交互接種之結果發現根瘤菌與其共生宿主間存有專一感染的結果。但是有許多根瘤菌在接種時產生例外的現象，即除感染原分離之植物，尙可感染其他豆科植物，如感染Lupinous之根瘤菌尙可感冉其他的豆科植物。因此有學者指出此一交互接種不應作爲分類之參考因子，唯至目前爲止，大多數的學者仍認爲此一現象仍具有重要影響之參考因素。

根瘤菌於1984年以前依據1974年第八版的Bergey's Manual of Determinative Bacteriology分成兩個族群、六個菌種，即快生性與慢生性兩族群，此一分類如表一所示[5-7]。在表中可發現主要係依據菌體之世代時間(generation time)及宿主予以分類。其中快生性是指菌體二至四小時分裂一次的菌種，慢生性係指六至八小時以上者。除了此者因素，在分類的參考因素尙包括醣類利用情形、鞭毛著生位置、血清反應、營養需求、代謝、DNA鹼基比及DNA雜交反應等資料，最後定出分類的名稱。

表一、1984年以前根瘤菌屬的分類[5-7]。
Table 1. Classification of rhizobia before 1984.

菌種	宿主
Group I	
Rhizobium leguminosarum	*Lathyrus, Pisum, Lens, Vicia*
Rhizobium phaseoli	*Phaseolus*
Rhizobium trifolii	*Trifolium*
Rhizobium meliloti	*Medicago, Meilotus, Trigonella*
Group II	
Rhizobium japonicum	*Glycine*
Rhizobium lupini	*Lupinus, Serradella, Ornithopus*

如上所述根瘤菌分成快生性及慢生性兩大族群，爲利於區分，於1980 年第四次國際固氮研討會中，將慢生性固氮菌獨立成屬，命名爲 *Bradyrhizobium*，Brady-係由希臘字Bradus轉變而來，意思是緩慢slow的意思[8]。

此後根瘤菌之分類也由於生物技術之進步，由於親源關係的研究結果而予以重新分類，其結果如表二所示[8-15]。在表二中可明顯發現於表一中快生性族群中之*R. leguminosarum*、*R. phaseoli*及*R. trifolii* 因親源關係非常接近，被合併爲一個菌種，但因在感染宿主時的差異，而分成三個亞種。並且增加了*R. loti*及*R. fredii*，其中*R. fredii*是分離自大豆的根瘤中，因其不論在世代時間、生理、生化反應、DNA鹼基比反應及其他反應均與*Rhizobium japonicum*不同，且在親緣關係的分析中較接近*Rhizobium meliloti*，因此予以獨立另成新種，並且爲紀念E. B. Fred對根瘤菌之貢獻，命名爲*R. fredii*。而慢生性之根瘤菌，因對*R. lupini*之研究發現尚有許多未確定的資料待深入探討，故將其種名予以去除。因此於1984年第九版之Bergey's manual of Systematic Bacteriology中，根瘤菌屬之內容有了很大的改變[9]。此外，尚有其他新的菌種陸續被發現，均整理於表二中。在表中較特殊者爲一新的根瘤菌屬*Azorhizobium*被確定，此一菌屬係感染結瘤於植物的根及莖，並可分別於根及莖的部份結瘤[15]，此一菌屬尚有許多功能未知，其可利用的研究尚待更進一步的發展。

凝集素－多醣體的辨識假說

由根瘤菌之分類可得知，根瘤菌與被感染宿主間存有專一感染的現象，此一性質不僅影響根瘤菌的利用效率，也影響其固氮活性。

根瘤菌與其宿主間如何進行專一辨識，至今仍無一較確定的學說予以說明之。在初期感染辨識，有 Dazzo 及 Hubbell 提出“凝集素－多醣體的辨識假說”。其不凝集素(lectin)來自拉丁字 legere，含有選擇的意思，能選擇特殊的醣類構造而與之結合[16,17]。凝集素分佈於動、植物及微生物體內，在植物大多主要存在於種子(尤其子葉中)，也有部份爲分佈於全部植物體中。凝集素於1888年Stillmark自篦麻子中分離出並發現它能與動物紅血球產生凝集反應，此後又發現它能與具抗原性之多醣體及醣蛋白發生沉澱作用。由於凝集素可與特定的醣類鍵結形成複合物，所以在功能上可作爲細胞辨識的介質[18]。

根瘤菌與豆科凝集素專一辨識的發展爲1973 Hamblin與Keat發現*Phasealus vulgaris*的根瘤及根瘤以下之根表面分離的凝集素具凝集能力，認爲此一凝集素可幫助菌體與根鍵結，此一鍵結位置利於細菌的感染[19]。之後Bohlool與Schmidt之結果顯示二十五株的大豆根瘤菌中有二十三株可與大豆凝集素鍵結，反之則大都不會有此現象，因此他們認爲豆科凝集素與根瘤菌表面多醣體間的反應可說明宿主與根瘤菌間的專一感染現象[20]。而Dazzo與Hubbell觀察自苜蓿與*R. trifolii*的感染發現菌體胞外夾膜多醣體與凝集素的反應有助於菌體的感染，因此提出此一假說[21]。

表二、1984年以後根瘤菌分類表。
Table 2. Classification of rhizobia after 1984.

菌　種	宿　主	參考文獻
Rhizobium		
R. leguminosarum biovar viciae	*Pisum*	Jordan, et al. 1984
R. leguminosarum biovar trifolii	*Trifolium*	Jordan, et al. 1984
R. leguminosarum biovar phaseoli	*Phaselous*	Jordan, et al. 1984
R. meliloti	*Medicago*	Jordan, et al. 1984
R. loti	*Lotus*	Jarvis, et al. 1982
R. fredii	*Glycine*	Scholla, et al. 1984
R. galegae	*Galega*	Lindstrom, et al. 1989
R. huakuii	*Astragalus*	Chen, et al. 1991
R. tropici	*Phaseolus*	Martinez - Romero, et al. 1991
R. etli	*Phaseolus*	Segovia, et al. 1993
Bradyrhizobium		
B. japonicum	*Glycine*	Jordan, et al. 1982
Azorhizobium		
A. caulinodans	Sesbania	Dreyfus, et al. 1988

在此一假說爲前提下許多的研究均顯示其結果支持此一假說，如Dazzo 等人的研究指出白苜蓿的凝集素 trifoliin A 與 *R. trifolii* 的莢膜多醣體專一鍵結外，trifoliin A 的接受者爲2-deoxyglucose[22,23]。Peau 等人探討 *R. meliloti*與紫苜蓿的凝集反應也支持根表面凝集素在辨識及與根瘤菌鍵結上扮演的角色[24]。在大豆的研究，由於研究者間的結果差異，有的顯示胞外多醣體及莢膜多醣體參考此一反應[25,26]，也有結果顯示是指多醣體作爲大豆凝集素的接受者[27,28]，但是均顯示豆科植物的凝集素與根瘤菌體的多醣體間的鍵結反應爲決定專一性感染的機制。

但是也有許多的研究結果不支持此一假說，如 Pueppke 之實驗中，十四株*B. japonicum*中有四株可與花生共生結瘤，同理的八株花生根瘤菌中有三株可感染大豆結瘤；在與凝集素鍵結反應中，有三株花生根瘤菌可與大豆凝集素反應，但是僅有一株菌株可感染大豆[29]。Law 及 Strijd的報告顯示大豆凝集素可與許多不同菌種的根瘤菌鍵結，而*B. Japonicum*也可與其他豆科

植物的凝集素反應，所以他們的結果也不支持此一假說[30]。Pull等人及Pueppke均分離出不產生凝集素之大豆品種，但是這些大豆均可被*B. japonicum*感染結瘤。由於這些結果及類似的結果被發現，使得"凝集素-多醣體的辨識假說"受到質疑而無法確立。

近年Diaz[33]的實驗中，*R. leguminosarum* biovar *viciae*感染豌豆爲宿主，但不會感染白苜蓿，他們將豌豆凝集素的基因轉殖至白苜蓿，使白苜蓿能分泌豌豆凝集素，結果*R. leguminosarum* biovar *viciae* 可感染白苜蓿，但是此結果僅能証明豆科凝集素爲感染機制中重要的因子，但仍缺乏直接的證據以支持該專一辨識的假說。

由於凝集素與根瘤菌的結合是可逆性的反應，同時也有許多相反的結果陸續被發表[34]。因此目前認爲凝集素與根瘤菌表面多醣體的反應爲增強菌體與根表面的親合性，並且可能參與感染絲形成的反應[35]。

類黃素(Flavonoid)與nod基因的表現

根瘤菌的遺傳基因被區分成許多不同的基因群，如 nod 基因群、nif 基因群、fix 基因群等。其中 nod 基因爲結瘤作用所必須的基因，而 nod 基因又可區分爲調節基因 nodD 基因，共通基因(common gene) nodABC 及宿主選擇基因nodEFGH。其他尚有許多基因的功能還未確定。結瘤基因之組成及功能列於表三中。

根瘤菌的結瘤基因表現受一些植物分泌物或萃取液的誘發，這些植物分泌物經分析爲三環化合物類黃素。此化合物又可分爲四大類，flavone、isoflavone、flavonol 及 flavanone，這些化合物爲植物二次代謝產物，可誘發植物的結瘤基因。首先被確定的是紫苜蓿根分泌物中之luteoli，它可誘發*R. meliloti*的nodC基因的表現[36]。其他的植物白苜蓿分泌之DHF(7,4-dihydroxyflavone)誘導*R. trifolii*的nodABC基因的表現，而*B. japonicum*則受到genistein及daidzein的影響。這些基因受到類黃素化合物的影響，會產生一些訊號化合物，導致根毛數量增加，並使根毛彎曲[37]。而nod基因中之nodD基因不會因爲類黃素的存在與否而影響其活化之表現，同樣的若根瘤菌之突變株的nod基因中，nodD基因存在對其他之根瘤基因的活化有很大的影響。因此nodD基因爲一調節基因，不僅可調控其他的nod基因的表現，尚可自我控制[38,39]。

nodD基因如何與類黃素化合物進行反應，以活化其它結瘤基因。經由許多學者提出一可能的模式爲 nodD 基因指導合成一 NodD 蛋白，此一蛋白質與類黃素結合後與 "nod box" 結合，進而開啓活化其它的 nod 基因[40,41]。nodD基因的組成可能是一段基因，或兩組乃至三組基因，目前的研究發現*R. leguminosarum* biovar *viciae*及*R. leguminosarum* biovar *trifolii*的nodD基因爲一段基因，*R. fredii*及*B. japonicum*爲兩組(D1及D2)組成，*R. meliloti*則含有D1、D2及D3三組基因構成[42-45]。由於這些研究的發現，可以確定專一辨識的反應是一連續多重步驟的反應。

表三、結瘤基因及可能功能

TABLE 3. Nodulation genes and their possible functions

nod gene	approximate molecular mass (kD[a])[b]	Proposed function
A	22	Essential for root hair curling and cortical cell division; likely synthesizes a phytohormonelike substance
B	24	See nodA
C	47	See nodA
D	3S-39	Transcriptional. regulator
E	43	Host range; reported sequence similarity to thefabB gene of E. coli; encodes a condensing enzyme of fatty acid synthase; encodes a membraneprotein
F	10	Host range; reported sequence similarity to acyl carrier protein gene
G	17	Host range; reported sequence similarity to dehydrogenase genes
H	29	Host range; may encode a sulfate transferase for the synthesis of NodRm-1
I	34	Reported sequence similarity to ATP binding transport protein genes
J	28	Encodes a membrane protein; may act in conjunction with nodI
K	15	Reported only in *Bradyrhizobium* sp. (Parasponia); function unknown
L	20	Host range; reported sequence similarity to acetyltransferase gene
M	66	Host range; reported sequence similarity to amidotransferase gene
N	18	Host range; function unknown
O	30	Funetion unknown; encoded protein is exported; reported to bind calcium
P	35	Host range; likely encodes a subunit of ATP sulfurylase
Q	31	Host range; likely encodes a subunit of ATP sulfurylase
R	14	Reported only in *R. leguminosarum* bv. *viciae*; function unknown
S	23	Function unknown
T		Host range; function unknown
U	62	Function unknown
V	99	Reported only in *B. japonicum*; important for host range; sequence similarity to membrane sensor family genes
W	25	Reported only in *B. japonicurn*; important for host range; sequence similarity to transcriptional regulatory protein family genes
X		Reported only in *R. leguminosarum* strains capable of nodulating Afghanistan pea
Y	15	Reported only in *B. japonicum* but found in all rhizobia by hybridization;function unknown
Z	35	Host range; function unknown
nolA	27	Host range; essential for nodulation of selected soybean cultivars; reportedonly in *B. japonicum*; likely a transcriptional regulatory protein gene

[a] A variety Or other genes can afrect nodulation but have not been given the "nod" or "nol" designation. Thereader is referred to other recent reviews which describe these related genes.

[b] In most cascs, molecular masses are those deduced ram the DNA sequence. Molccular masses deduced by physical methods may deferrer.

在根瘤菌nod基因與感染機制的研究中發現，當 nod 基因開啓後，根瘤菌分泌出的訊號化合物將與專一辨識有關。在紫苜蓿與 *R. meliloti* 的反應中，*R. meliloti* 的 nodH 及 nodPQ 產生訊號化合物，會導至根毛彎曲，而且由分析發現至少含有三種具生物活性的化合物，這些化合物混合加入植物培養基中將導致根皮層細胞分裂，形成中空且不含細菌的似根瘤結構[46]。這些化合物中已確定者有二，分別是NodRm-1及NodRm-2。NodRm-1是含硫的N-acyl-tri-N-acetyl-β-1,4-D-glucosamine的四醣化合物，而NodRm-2與NodRm-1的差別在於NodRm-2不含硫酸鹽基團[35]。在 *B. japonicum* 之研究也發現一種類似 NodRm-1 的訊號化合物，具有非硫化的pentaglucosamine化合物[47]。另外在*R. leguminosarum*的nodD基因與豌豆根分泌物調控反應中也發現nodF基因控制類似acyl-carrier蛋白質，此與脂肪酸合成相關[48,49]。

因此，nod基因受到類黃素化合物的活化產生訊號化合物，可以抑制根的成長，導致根毛彎曲，誘發皮層細胞的分裂，根瘤的形成，以及類黃素的分泌量，加強 nod 基因的表現。這些反應都與宿主及根瘤菌間辨識反應相關。

結　論

根瘤菌與被感染的宿主間存有相當範圍的專一性，在這方面的研究也有20年以上的歷史，至今仍無法確定專一感染的步驟，雖有學者提出整個感染的過程是由多重的步驟所完成，但至今仍無一較完整的模式可以說明。本文將目前已完成之文獻加以整理，期望能提供學者了解固氮菌與宿主在專一感染時兩者間的反應，期盼能有更大之突破，使能清楚明瞭專一辨識之機制。

參考文獻

1. 宋樹群，林良平 1993 固氮根瘤菌之分類及演化。中華生質能源學會會誌 12：98-107。

2. Smith, D. C., and A. E. Douglas. 1987. Symbiosis between nitrogen-fixing prokaryotes and plant roots. In Smith, D. C.and A. E. Douglas. The Biology of Symbiosis. pp. 64-92. Edward Arnold, Ltd. London, U. K.

3. Elkan, G. H. 1992. Taxonomy of the rhizobia. Can. J. Microbiol. 38:446-450.

4. Elkan, G. H., and C. R. Bunn. 1991. The rhizobia. In Balows, A. H., G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, and K. H. Schleifer (ed.) The Prokaryotes. 2nd ed. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. pp.2197-2213.

5. Alexander, M. 1977. Nitrogen fixation: symbiotic. In Alexander, M. Introduction to Soil Microbiology. pp. 305-330. John Wiley & Sons, Inc. New York.

6. Burton, J. C. 1979. *Rhizobium* species. In Peppler, H. J. ,and D. Perlman (ed.) Microbial Technology. Vol. 1. Microbial Processes. pp.29-58. Academic Press, New York .

7. Jordan, D. C., and O. N. Allen. 1974. Family III. Rhizobiaceae Conn 1938. In Buchanan, R. E., and N. E. Gibbons. (ed.) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. pp .261-264. Williams and Wikins, Baltimore, Md. U. S. A.

8. Jordan, D. C. 1982. Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* Ben. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants. Int. J. Syst. Bacteriol. 32:136-139.

9. Jordan, D. C. 1984. Family III. Rhizobiaceae Conn 1938. In Krieg, N. R. and J. G. Holt. (ed.) Bergey's Mannual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. pp. 234-254, Williams and Wikins, Baltimore, Md. U. S. A.

10. Jarvis B. D. W., C. E. Pankhurst, and J. J. Patel. 1982. *Rhizobium loti*, a new species of legume root nodule bacteria. Int. J. Syst. Bacteriol. 32:378-380.

11. Scholla, M. H., and G. H. Elkan. 1984. *Rhizobum fredii* sp. nov., a fast-growing species that effectively nodulates soybeans. Int. J. Syst. Bacteriol. 34:484-486.

12. Lindstrom, K. 1989. *Rhizobium galegae*, a new species of legume root nodule bacteria. Int. J. Syst. Bacteriol. 39:365-367.

13. Chen, W. X., G. S. Li, Y. T. Wang, H. L. Yuan and J. L. Li. 1991. *Rhizobium huakuii* sp. nov. isolated from the root nodules of *Astragalus sinicus*. Int. J. Syst. Bacteriol. 41:275-280.

14. Martinez-Romero, E., L. Segovia, F. M. Mercante, A. A. Franco, P. Graham, and M. A. Pardo. 1991. *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgar* is L. beans and *Leucaena* sp. trees. Int. J. Syst. Bacteriol. 41:417-426.

15. Dreyfus, B. J. L. Garcia, and M. Gillis. 1988. Characterization of *Azorhizobium caulinodans* Ben. nov., sp. nov., a stem - nodulating nitrogen-fixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*. Int. J. Syst. Bacteriol. 38:89-98.

16. Broughton, W. J. 1978. Control of specificity in legume-*Rhizobium* associations. J. Appl. Bacteriol. 45:165-194.

17. Goldstein, I. J., and R. D. Poretz. 1986. Isolation, physicochemical, characterization, and carbohydrate-binding specificity of lectins. In Liener, I. E., N. Sharon, I. J. Goldstein . (ed.) The Lectins. Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine. Academic Press, Inc, Orlando, Florida, U.S.A.

18. Doyle, R. J., and M. Slifkin. 1989. Applications of lectins in microbiology. ASM news . 55:655-658

19. Hamblin, J., and S. P. Kent. 1973. Possible role of phyto-haemagglutininin Phaseolus *vulgar* is L. Nature New Biol. 245:28-30.

20. Bohlool, B. B., and E. L. Schmidt. 1974. lectins: a possible basis for specificity in the *Rhizobium*-legume root nodule symbiosis. Science 185:269-271

21. Dazzo, F. B., and D. H. Hubbell. 1975. Cross reactive antigens and lectins as determinants of symbiotic specificity in the *Rhizobium*-clover association. Appl. Microbiol. 30:1017-1033.

22. Dazzo. F. B., C. A. Napoli, and D. H. Hubbell. 1976. Adsorption of bacteria to roots as relet Ed to host specificity in the *Rhizobium*-clover symbiosis. Appl. Environ. Microbiol. 32:166-171.

23. Dazzo. F. B., and W. J. Brill. 1977. Receptor site on clover and alfalfa roots for *Rhizobium*. Appl. Environ. Microbiol. 33:132-136.

24. Paau, A. S., W. T. Laps, and W. J. Brill. 1981. Agglutinin from alfalfa necessary for binding and nodulation by *Rhizobium melileti*. Science 213:1513-1515.

25. Calvert, H. E., M. Lalonde, T. V. Bhuvanswari, and W. D. saver. 1978. Role of lections in plant-microorganism interactions. IV. Ultrastructurel location of soybean lectin binding sites of *Rhizobium japonicum*. Can. J. Microbiol. 24:785-793.

26. Tsien, H . C ., and E . L . Schmidt . 1981. Localization and partial characterization of soybean lectin-binding polysaccharide of *Rhizobium japonicum*. J. bacteriol. 145:1063 - 1074.

27. Kato, G., Y. Maruyamn, and M. Nakamura. 1980. Role of bacterial lipopolysaccharides in the adsorption process of the *Rhizobium*-pea symbiosis. Agric. Biol. Chem. 46:2843-2855.

28. Wolpert, J. S., and. P. Albersheim. 1976. Host-symbiont interaction. I. The lectins of legume interact with the O-antigen-containing lipopolysaccharides of their symbiont rhizobia. Biochem. Biophys. Res. Commun. 90:729-757.

29. Pueppke, S. G., T. G. Freund, B. C. Schulz,and H. P. Friend man. 1980. Interaction of lectins from soybean and peanut with-rhizobia that nodulate soybean, peanut, or both plants. Can. J. Microbiol. 26:1489-1497.

30. Law, I. J., and B. W. Strijdom. 1977. Some observations on plant lectins and *Rhizobium* specificity . Soil Biol . Biochem. 9:79-84.

31. Pull, S. P., and. S. G. Pueppke, T. Hymowitz, and J. H. Orf. 1978. Soybean lines lacking the 120,000-dalton seed lectin. Science. 200:1277-1279.

32. Pueppke, S. G. 1983. *Rhizobium* infection threads in root hairsof *Glycine Max* (L.) Merr., *Glycine soja* Sieb. & Zucc., and *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Can. J. Microbiol. 29:69-76.

33. Diaz. C. L., L. S. Melchers, P. J. J. Hooykaas, B. J. J. Lugtenberg and J. W. Kline. 1989. Root lectin as a determinant of host-plant specificity in the *Rhizobium*-legume symbiosis. Nature 338:579-581.

34. Sharon, N., and H. Lis. 1989. Lectins as cell recognition molecules. Science. 246:227-243.

35. Roth, L. E. and G. Stacey. 1991. *Rhizobium*-legume symbiosis. In Dworkin, M. (ed.) Microbial Cell-Cell Interactions. pp.255-301. American Society for Microbiology. Washington, D. C., U. S. A.

36. Peters, N. K., J. W. Frost, and S. R. Long. 1986. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. Science 233:977-980.

37. Zaat, S. A. J., A. A. N. van Brusel, T. Tak, E. Pees, and B. J. J. Lugtenberg. 1987. Flavonoid induce *Rhizobium leguminosarum* to produce nodDABC gene - related factors that cause thick, short roots and root hair responses on common vetch. J. Bacteriol. 169:3388-3391.

38. Long, S. R. 1989. *Rhizobium* genetics. Ann. Rev. Genet. 23:483-506.

39. Rossen, L., C. A. Shear man, A. W. B. Johnston, and J. A. Downie. 1985. The nodD gene of *Rhizobium leguminosarum* is autoregulatory and in the presence of plant exudate induces the nod A ,B, C genes. EMBO J. 4:3369-3373.

40. Wang, S. P. and G. Stacey. 1990. A divergent nod box sequence is essential for nodD1 induction in *B. japonicum*. PP. 600. In gresshhoff, P. M., L. E. Roth, G. Stacey, and W. E. Newon (ed.) Nitrogen fixation:Achievements and objectives. Chapmen and Hall, New York, U.S.A.

41. Hong, G. F., J. E. Barn, and A. W. B. Johnston. 1987. Evidence the DNA involved in the expression of nodulation (nod) genes in *Rhizobium* binds to the product of the requlatory gene nodD. Nucleic Acid Res. 15:9677-9689.

42. Wijffelman, C., H. Spaink, H. Schlman, B. Zaat, K. Recourt, R. De Maagd, R. Okker, and B. J. J. Lugtenberg. 1989. Regulation of nod gene expression: the role of nodD protein. pp.137-144. In B. J. J. Lugtenberg. (ed.) Signal molecules in plants and plant-microbe interaction. Springer-Verlag, Berlin. Germany.

43. Applbaum, E. R., D. V. Jhompson, K. Idler, and N. Chartrain. 1988. *Rhizobium japonicum* USDA 191 has two nodD genes that differ in primery structure and functtion. J. Bacteriol. !70:12-20.

44. Gottfert, M., J. W. lamb, R. Gasser, J. Semanza, and H. Henneck. 1989. Mutational analysis of the *Bradyrhizobium japonicum* common nod genes and further nod box-linker genomic DNA region. Mol. Gen. Genet. 215:407-415.

45. Honma, M. A., and F. M. Ansuble. 1987. *Rhizobium meliloti* has three functional copies of the nodD symbiotic requlatory gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84:8558-8562.

46. Faucher, C., S. Camut, J. Denarie, and G. truchet. 1989. The nodH and nodQ host rang genes of *Rhizobium meliloti* behave as avirulence genes in *R. leguminosarum* bv. *viciae* and determine changes in the production of plant-specific extracellular signals. Mol. Plant microbe Interact. 2:291-300.

47. Verma, D. P. S. 1992. Signals in root nodule organogenesis and endocytosis of *Rhizobium*. Plant Cell 4:373-382.

48. Lipman, F. I971. Attempts to map a process evolution of peptide biosythesis. Science 173:875-884.

49. Shearman, C. A., L. Rossen , A. W. B. Johnston, and J. A. Downie. 1986. The *Rhizobium leguminosarum* nodulation gene nodF encodes a polypeptide similar to acyl-carrier protein and is regulated by nodD plus a factor in pea root exudate. EMBO J. 5:647-652

討　論

溪口鄉陳銘森農友問:

根瘤菌對大氣中氮固氮機制?

長庚醫學院宋樹群答:

根瘤菌感染至豆科宿主形成根瘤後, 在類菌體的外圍, 形成一菌體外膜, 可阻擋O_2的進出, 在此時由與氧氣具高親合性的豆血紅素攜帶進入, 使類菌體內之好氧酵素產生足量之ATP, 提供固氮酵素利用, 完成固氮反應。

The Relationship between Rhizobia and Legume Host

Shuh-Chyung Song[1] and Liang-Ping Lin[2]

[1] Institute of Molecular and Cellular Biology, Chang-Gung Medical College
[2] Deparment of Agricultural Chemistry, National Taiwan University

ABSTRACT

Rhizobia can infect legume plants and form nodules in which rhizobia fix nitrogen gas. This reaction has been established over 100 years ago, in 1888. Although the infectious process has been interpreted, its detailed steps are not well established. The relationship between rhizobia and its host has been obtained we established the specificity of infectious relationship, and gave *Rhizobium* a species name. Until 1974, there were six species of *Rhizobium*, which subsequently were modified to three genera. Based on the mechanism of specific infection, some researchers suggested a "lectin-polysaccharide recognition hypothesis"for interpreting the phenomenon of infection. They postulated that leguminous lectins can recognize and bind bacterial extra cellular polysaccharides forming a bridge connecting rhizobia and host. The specificity of the infectious process is carried out through this bridge reaction. However, many contrary data were published, so that this hypothesis cannot be sustained for explaining the host-parasite relation. Recently, some investigations revealed that flavonoid compound, which are secreted from plant roots, can induce the nod genes of rhizobia. Thereafter, rhizobia releases oligosaccharides as signal compounds into the rhizophere, which in turn would decide the relationship between host and symbiont. Thus, we require more precise techniques and better results, ie. immunochemistry, genetic engineering, etc. to establish the infectious relationship between rhizobia and legume host.

Key words: *Rhizobium*, legume, lectin, polysaccharide, flavonoid,nod gene

臺灣固氮放線菌在林業上的研究及應用

王維洋
臺灣省林業試驗所

摘　要

固氮放線菌(*Frankia*)是一類與放線根瘤植物(Actinorhizal plants)根部共生形成根瘤，而可行固氮作用的絲狀細菌(Actinomycetes)，為普遍存在之土壤微生物，其所共生的寄主全為木本植物，目前在全世界已知者有８科25屬，超過270種放線根瘤植物。臺灣地區之放線根瘤植物計有五個屬，包括赤楊屬(*Alnus*)，木麻黃屬(*Casuarina*)，馬桑屬(*Coriaria*)，胡頹子屬(*Elaeagnus*)，及楊梅屬(*Myrica*)，共約十餘種灌木及喬木。本研究自全省採集放線根瘤植物，並分離純化其根瘤內之固氮放線菌，共得到71株之純化菌株，分屬於九種宿主植物。本文概略介紹放線根瘤植物之種類、特徵，以及固氮放線菌之分離純化、形態生理特性以及在本省林業上的應用潛力。

關鍵字：固氮放線菌、放線根瘤植物、共生固氮作用

前　言

固氮放線菌之固氮能力約與豆科植物之根瘤菌相當，對整個地球生態系統而言，其所固定的氮素總量亦不亞於根瘤菌所固定之氮素總量[12，14]。臺灣之林業政策，在近年來，已由生產林木導向，變更為以生態保育及國土保安為目的，而放線根瘤植物 (Actinorhizal plants) 在本省為非常普遍且相當重要的生物固氮資源，對於地表覆蓋以及增進土壤肥力有重要影響。這一類非豆科之固氮植物，其共生固氮之微生物夥伴為屬於放線菌目(Actinomycetales)之固氮放線菌(*Frankia* spp.)，亦譯為弗蘭克氏菌[3]或孢囊放線菌[5]。固氮放線菌為一類具有菌絲(mycelium)、孢子囊(sporangium)、孢子(spore)及囊泡(vesicle)之原核細菌，囊泡為固氮放線菌特有之構造，為該菌之固氮作用中心。固氮放線菌為放線菌中唯一能與雙子葉木本植物根部共生且具固氮能力之一屬，與根瘤菌 (*Rhizobium*) 並為主要的植物共生固氮細菌。雖然根瘤菌早在十九世紀即已發現，固氮放線菌卻遲至1978年才成功的分離培養並証實其固氮能力 [13]，因此在研究上起步較根瘤菌晚了將近一個世紀，此乃因其在人工培養基上生長緩慢，分離時易受雜菌汙染，純化不易所致。

放線根瘤植物的種類

目前已知之放線根瘤植物有8科25屬，超過270種(表一)[15]。臺灣地區之放線根瘤植物計有五個屬，包括赤楊屬(*Alnus*)，木麻黃屬(*Casuarina*)，馬桑屬(*Coriaria*)，胡頹子屬(*Elaeagnus*)，及楊梅屬(*Myrica*)，共約十餘種灌木及喬木[1,2]。台灣赤楊(*Alnus formosana*)為固有樹種，在本省分佈甚廣，由海拔200公尺至2,500公尺之山地均可生長，屬先驅性樹種，對於山坡裸露地及

崩塌地覆蓋相當重要，亦常生長於公路旁向陽坡面，有穩定坡面之功用。木麻黃類是由澳洲引進之外來樹種，因具有高度之耐鹽性，為本省主要的海岸防風林造林樹種，分布遍及全省及離島海岸，主要種類包括木賊葉木麻黃(*C. equisetifolia*)、肯氏木麻黃(*C. cunninghamiana*)等，除了可防風定砂，保護海岸之外，其根瘤之固氮作用更可提高海岸砂土肥力，改良土壤以增進其利用價值。台灣馬桑(*Coriaria intermedia*)為叢生之小灌木，分布於全省河岸、砂地向陽山麓及懸崖斷壁上，其根與種子含有劇毒。胡頹子屬在本省約有 9 種，屬於不耐陰之直立灌木或攀緣藤本，依種類不同，分布海拔可由海平面至3000公尺高山，多生長於開闊、乾旱及貧脊地區，常見者包括台灣胡頹子(*E. formosana*)、藤胡頹子(*E. glabra*)、鄧氏胡頹子(*E. thunbergii*)等。楊梅屬在本省有兩種，包括特產於恒春港口，喜生長於強風裸露地之恒春楊梅(*M. adenophora* var. *kusanoi*)，及果實可食用之楊梅(*M. rubra*)，楊梅因其不易落葉之特性，林務局視為防火樹種而將其栽植於森林防火線上。這些放線根瘤植物之所以能在這些土壤貧脊的惡劣環境中生存，主要就在於其根瘤的共生固氮能力，降低了其對環境中養分的需求。

固氮放線菌的分離與蒐集

本省之固氮放線菌研究始自曾顯雄氏針對臺灣赤楊之根瘤解剖學研究及對其根瘤內生菌之分離[25, 26]，其後陸續有其他學者發表相關研究報告[1, 2, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 23, 27]。為了有系統的研究固氮放線菌，林試所進行了兩年的的菌種分離純化與蒐集保存之研究，自本省各縣市及澎湖、金門及馬祖等離島，共計46個地區採集放線根瘤樹種之根瘤，共計333單株進行固氮放線菌之分離(圖一)。放線根瘤植物為天然林或人工林栽植之固氮樹種，包括台灣赤楊、木賊葉木麻黃、山木麻黃、肯氏木麻黃、銀木麻黃 (*C. glauca*)、台灣馬桑、蓬萊胡頹子(*E. formosensis*)、臺灣胡頹子、藤胡頹子、慈恩胡頹子(*E. grandifolia*)、誼梧(*E. oldhamii*)、菲律賓胡頹子(*E. philippinensis*)、鄧氏胡頹子、恒春楊梅及楊梅等十五種植物。

固氮放線菌之分離方法係採用 Benson 氏法加以修改[1, 2, 12]，採回之新鮮根瘤，先以自來水經超音波震盪，將根瘤表面泥沙沖洗乾淨，再以解剖刀切下當年生之新鮮白色至淡褐色瘤瓣(nodule lobes)，約距頂端 2 mm 處切下並置於1.5 ml 之微量離心管中，先以蒸餾水清洗數次，再以95%酒精表面消毒約10 秒鐘，並以無菌水清洗數次後，加入30% 過氧化氫溶液(內含二至三滴 Tween 20介面活性劑) 浸泡20分鐘，再以無菌水清洗數次。表面消毒之瘤瓣移入已滅菌之組織研磨器(Ten Broeck tissue homogenizer)內，加入數毫升無菌水研磨，磨碎之根瘤懸浮液再以及50mm 及 20mm之雙層尼龍濾網過濾。大部分根瘤細胞內之囊泡團 (Vesicle clusters) 保留於20 mm濾網上，再以 1 公升之無菌水清洗 20 mm濾網以除去污染雜菌後，將囊泡團以無菌水洗入培養皿內，然後吸取 1 ml囊泡團懸浮液加入內含5ml BAP缺氮培養液[26]之試管內，於28°C，無光照下培養三至四個月，至試管內有菌絲團長出後，再進行菌種純化步驟。長出菌絲之培養試管，經顯微鏡鑑定確定內含固氮放線菌後，以吸管吸出菌絲團，移入內含十餘粒玻璃珠 (1 mm直徑) 之無菌微量離心管內，經劇烈震盪(vortex) 將菌絲團均質化，再將均質化之懸浮液均勻塗佈於BAP缺氮平板培養基(1.5% agar) 上，培養一至二個月後，利用解剖顯微鏡在培養基上

挑出隔離之單一固氮放線菌菌落，移入BAP缺氮培養液內培養，以得到純化之固氮放線菌株。純化之菌種每三個月更換一次缺氮培養液進行繼代培養。

固氮放線菌的特性

本研究分離及蒐集本省固有之固氮放線菌種，目前已得到71株的純化菌株。純化菌株之宿主植物包括台灣赤楊等 9 種植物 (表二)，而這些宿主植物之分布則包括台北市等16個縣市 (表三)，具有相當之代表性。由於未長出菌絲或因雜菌汙染，平均每五個所採集到的單株植物之根瘤僅能分離得到一株純化菌株，台灣赤楊及木麻黃根瘤之固氮放線菌較容易分離純化，而胡頹子、楊梅及台灣馬桑之固氮放線菌則較不易分離得到，因此獲得之菌株比例較低。固氮放線菌在缺氮BAP培養液中生長緩慢，在試管內，自分離至長出菌絲約需三個月至一年，再於平板培養基上挑取單菌落培養成純化菌株。純化之菌株多為白色棉絮狀，少數產生色素而呈淺粉紅色至淺褐色。在顯微鏡下，可見纖細而不具隔膜之菌絲，部分菌株產生孢子囊，形狀不規則，內有多數微細孢子。所有的菌株在缺氮BAP培養液中均產生囊泡(Vesicles)，囊泡呈圓球狀，直徑1至5mm，依不同菌株而異，具厚壁及柄，柄之長度亦有不同，囊泡基部具一隔膜(septa)，為菌絲中唯一產生隔膜的地方，囊泡為固氮放線菌之固氮中心 [22]。純化之菌株部分經接種台灣赤楊可形成有效性根瘤，固氮效率經乙炔還原法(Acetylene reduction assay)測定，約介於40—1700 nM C_2H_2/g nodule/hr，平均為508 nM C_2H_2/g nodule/hr，依菌株不同而異 (表四)。接種後植物之生長與未接種之對照組生長差異極大，此點亦與許多研究報告之結論相同[16, 21]。不同菌株對寄主之親合性亦有不同，由木麻黃根瘤分得之菌株接種台灣赤楊，親合性極差，固氮效率亦低。

固氮放線菌的應用潛力

固氮放線菌在本省之應用，大約可分為三方面，一是藉著放線根瘤樹種生物性固氮作用，來增加林地土壤中氮素含量，以取代林地施用氮肥，增加林地生產力，亦即將固氮植物當做肥料木使用，除此之外，更可利用放線根瘤樹種之快速生長特性，將其與長輪伐期之貴重針葉樹種混植，而在10至20年後砍伐，既可減少林地除草費用，又可提早得到收益，目前已進行之研究包括將台灣赤楊與台灣杉、耳莢相思樹及桉樹等混植，以觀察其效果。二是利用放線根瘤樹種能在脊劣地生長之能力，做為環境保護之用，例如在崩塌地、廢礦區及海岸邊進行造林，減少環境災害衝擊，亦可利用遺傳工程技術，改變菌株及其宿主植物之基因，使其具有吸收及儲存重金屬能力，在工業區或工業廢水重金屬嚴重汙染之土壤內栽植，以進行植物介質再生作用(phytoremediation)，來挽救因重金屬汙染而帶有毒性之土壤。三是利用固氮放線菌作為新的固氮基因資源(genetic resources)，利用遺傳工程技術以改良其它非共生固氮性作物，使其具有固氮能力，降低栽培成本。在固氮放線菌中已有許多不同的質體被分離出來[18, 19, 20]，經過改變後可作為載體(vector)之用。固氮放線菌之固氮基因(*nif* gene)與根瘤菌類似，顯示其亦為高度保守性之基因，但基因之排列略有不同，可提供對照研究之用[22, 24]。而固氮放線菌之結瘤基因

(*nod* gene)則與根瘤菌明顯不同，值得深入研究。為達到上述應用目的，在未來對於固氮放線菌的生理、生化及遺傳等基本資料之蒐集與研究應進一步加強。

參考文獻

1. 王維洋，胡曼麗，曾振南，陳兆玫，華傑 1992 建立農業微生物種原庫及種原利用(第五年)-固氮放線菌的蒐集、鍵定、複核與保存(第一報)。食品工業發展研究所研究報告第 693-1 號。

2. 王維洋，胡曼麗，陳志忠，黃莉郁，陳兆玫，華傑 1993 加強農業微生物種原之蒐集、鍵定、保存與篩選(第一年)固氮放線菌的蒐集、鍵定、複核與保存(第二報)。食品工業發展研究所研究報告第 828 號。

3. 蔣建德，楊慧凡，黃家彬，朱寶琴，劉惠昌，鍾玉華，楊碧芳 1984 由四川愷木根瘤中分離和培養弗蘭克氏菌。微生物學報 24:37-40。

4. 李明仁 1986 臺灣赤楊天然林放射菌根瘤生物量及共生固氮作用之季節興變異。中華林學季刊 19:13-23。

5. 杜大至，王毅岩，崔國良 1984 非豆科植物共生固氮的研究 II.沙棘根瘤內生菌的分離與回接。微生物學報 24:41-45。

6. 林慧敏，林良平 1988 根瘤菌胞外多醣體與感染宿主初期的相關性 I. 生長期與碳源及氮源。國立臺灣大學農學院研究報告第28卷第1號

7. 唐盛林，陳正豐 1988 赤楊類固氮菌之簡介。臺灣林業 14(9):36-41。

8. 唐盛林，陳正豐，郭幸榮，楊政川 1990 介紹赤楊類之遺傳改良與固氮作用。臺灣林業 16(11):10-18。

9. 唐盛林，郭幸榮，王維洋 1992 二個產地台灣赤楊根瘤固氮放線菌之分離接種及其固氮活性之比較。中華林學季刊 25:59-72。

10. 郭幸榮，丁慧娟，張建群 1986 木麻黃固氮效率之研究(I)根瘤內生物*Frankia* 之分離。中華林學季刊 19:39-47。

11. 簡岳亭，林良平 1987 臺灣赤楊根瘤之有效固氮菌的形態與生理特性。中國農業化學會誌 25(3):240-250。

12. Benson, D. R. 1988 The genus *Frankia*: actinomycete symbionts of plants. Microbiological Sciences 5:9-12.

13. Callaham, D., P. Del Tredici and J. G. Torrey. 1978. Isolation and cultivation *in vitro* of the actinomycete causing root nodulation of *Comptonia*. Science 199:899-902.

14. Dawson, J. O. 1983 Dinitrogen fixation in forest ecosystems. Can. J. Microbiol. 29:979-992.

15. Dawson, J. O. 1992 The use of actinorhizal plants in forestry and agroforestry. In "Proceedings of the 1992 Joint International Symposium on Air Pollution, Soil Microbiology and Biotechnology of Forestry" C. H. Chiang and Y. N. Wang (eds.), Taipei, Taiwan, pp. 177-198.

16. Houwers, A. and A. D. L. Akkermans 1981 Influence of inoculation on yield of *Alnus glutinosa* in the Netherlands. Plant and Soil 61:189-202.

17. Lin, L. P. 1992 The ecological significance of *Frankia* isolates from *Alnus formosana* root nodules in northern Taiwan. In "Proceedings of the 1992 Joint International Symposium on Air Pollution, Soil Microbiology and Biotechnology of Forestry" C. H. Chiang and Y. N. Wang (eds.), Taipei, Taiwan, pp. 199-213

18. Normand, P., P. Simonet, J. L. Butour, C. Rosenberg, A. Moiroud, and M. Lalonde, 1983. Plasmids in *Frankia* sp. J. Bacteriol. 155:32-35.

19. Normand, P., J. A. Downie, A. W. B. Johnston, T. Kieser, and M. Lalonde, 1985. Cloning of a multicopy plasmid from the actinorhizal nitrogen-fixing bacterium *Frankia* sp. and determination of its restriction map. Gene 34:367-370.

20. Normand, P. and M. Lalonde. 1986. The genetics of actinorhizal *Frankia* : a review. Plant and soil 90:429-453.

21. Prat, D. 1992 Effect of inoculation with *Frankia* on the growth of *Alnus* in the field. Acta Ecologica 13:463-467.

22. Schwintzer, C. R. and J. D. Tjepkema 1990. The biology of *Frankia* and actinorhizal plants. Academic Press.

23. Su, H. and L. P. Lin 1989 The dissemination of endophytes and existence of endomycorrhiza on the rhizoplane of *Alnus formosana*. J. Chinese Agri. Chem. Soc. 27:515-523.

24. Tjepkema, J. D. and L. J. Winship 1980. Energy requirements for nitrogen fixation in actinorhizal and legume root nodules. Science 209:279-281.

25. Tzean, S. S. and C. L. Chu 1984 Ultrastructure and host-endophyte interactions in *Alnus formosana* root nodules. Proc. Natl. Sci. Council Part B. 8:210-221.

26. Tzean, S. S. and C. L. Chu 1985 Infectivity and nitrogen-fixing activity of *Frankia* isolated from nodules of *Alnus formosana*. Proc. Natl. Sci. Council Part B. 9:305-310.

27. Wang, W. Y. 1992 The isolation and study of symbiotic nitrogen fixing bacteria in Taiwan. In "Proceedings of the 1992 Joint International Symposium on Air Pollution, Soil Microbiology and Biotechnology of Forestry" C. H. Chiang and Y. N. Wang (eds.), Taipei, Taiwan, pp. 215-228.

表一、目前已知的放線根瘤植物所分布之科、屬及種類。

Family	Genus	No. of species
Betulaceae (樺木科)	*Alnus**	35
Casuarinaceae(木麻黃科)	*Allocasuarina*	54
	*Casuarina**	16
	Ceuthostoma	2
	Gymnostoma	18
Coriariaceae(馬桑科)	*Coriaria**	16
Datiscaceae(四數木科)	*Datisca*	2
Elaeagnaceae(胡頹子科)	*Elaeagnus**	38
	Hippophae	2
	Shepherdia	2
Myricaceae(楊梅科)	*Comptonia*	1
	*Myrica**	28
Rhamnaceae(鼠李科)	*Adolphia*	2
	Ceanothus	31
	Colletia	4
	Discaria	5
	Kentrothamnus	1
	Retanilla	2
	Talguenea	1
	Trevoa	2
Rosaceae(薔薇科)	*Cercocarpus*	4
	Chamaebatia	1
	Cowania	1
	Dryas	3
	Purshia	2
8 科	25 屬	273 種

* 原產或栽植於臺灣

表二、分離純化之固氮放線菌株及其宿主植物

中文名	學　名	分離株數
台灣赤楊	*Alnus formosana*	14
木賊葉木麻黃	*Casuarina equisetifolia*	28
山木麻黃	*Casuarina junghuhniana*	4
肯氏木麻黃	*Casuarina cunninghamiana*	7
銀木麻黃	*Casuarina glauca*	10
台灣馬桑	*Coriaria intermedia*	2
鄧氏胡頹子	*Elaeagnus thunbergii*	1
恒春楊梅	*Myrica adenophora* var. *kusanoi*	2
楊梅	*Myrica rubra*	3
共　計		71 株

表三、分離得到之固氮放線菌株，其採集地點在本省不同縣市之分布

縣市名	菌株數
台北市	3
台北縣	2
桃園線	1
新竹縣	1
苗栗縣	1
台中縣	6
彰化縣	2
台南縣	1
高雄縣	1
屏東縣	10
嘉義縣	2
宜蘭縣	7
花蓮縣	11
台東縣	1
澎湖縣	21
金門縣	1

表四、不同固氮放線菌株接種臺灣赤楊，其根瘤之固氮效率

菌 種	宿主植物	固氮效率 nM C_2H_2/g nodule/hr
Af-1	台灣赤楊	789.5
Af-2	台灣赤楊	400.8
Af-3	台灣赤楊	427.8
Af-4	台灣赤楊	245.9
Ce-1	木賊葉木麻黃	562.5
Ce-2	木賊葉木麻黃	694.0
Ce-3	木賊葉木麻黃	512.3
Ce-4	木賊葉木麻黃	952.2
Ce-5	木賊葉木麻黃	NT
Ce-6	木賊葉木麻黃	286.2
Ce-7	木賊葉木麻黃	1726.6
Cj-1	山木麻黃	186.4
Em-1	鄧氏胡頹子	41.4
Mr-1	楊梅	153.4
Mr-2	楊梅	144.4
平 均		508.8

討　論

花蓮區農改場黃山內場長問:

放射狀固氮菌與其它微生物之間互相作用如何? 如*Frankia*與或ectomycorrhiza之間協同作用是否有試驗資料?

林試所王維洋博士答:

以台灣赤楊來說, 根系中有*Frankia*、外生菌根菌(*Lacarialacata*), 內生菌根菌(*Acaulospora* sp.等)一起共生, 協助台灣赤楊在極端脊劣土壤中生長, 至於其間共生依賴關係, 及與養分交換尚待進一步研究。國外報導赤楊(*Aluns rubra*)菌根中亦有*Azospirillum*存在, 進行協生(Associated) 固氮作用。

台中區農改場黃秀華問:

*Frankia*是否有專一性。

林試所王維洋博士答:

*Frankia*對宿主選擇是具有專一性, 一般而言可分成赤楊屬*Frankia*及木麻黃屬*Frankia*, 二個group間不易交互結瘤, 而胡頹子屬植物則具較廣之結瘤性, 可與上述兩個之*Frankia*結瘤。不同*Frankia*分離株之host range亦有差異。

The Study and Application of *Frankia* in Taiwan Forestry

Wei-Young Wang

Department of Forest Protection, Taiwan Forestry Research Institute

Abstract

Frankia is a group of filamentous bacterium in the family of actinomycetaceae that can symbiotic growth with higher actinorhizal plants and fixing atmospheric nitrogen. *Frankia* is universally distributed and all of its hosts are woody species. About eight families with 25 genus and over 270 species of actinorhizal plants were recorded. There are five genus of actinorhizal plants grown in Taiwan. They are *Alnus, Casuarina, Coriaria, Elaeagnus* and *Myrica* with over 15 species of trees and shrubs. Nodules of hundreds of actinorhizal plants were collected around the island and used to isolate their *Frankia* endophytes. Currently, 71 *Frankia* pure cultures isolated from nine different host plants were obtained. This article briefly describe the actinorhizal plants occurred in Taiwan and the isolation, characteristics of *Frankia* cultures. The potential application of actinorhizal plants and *Frankia* in Taiwan forestry was also suggested.

Key words : *Frankia*, actinorhizal plants, symbiotic nitrogen fixation

台灣毛豆根瘤菌推廣應用

洪阿田[1] 許秋玫[2]

[1] 高雄區農業改良場副研究員[2] 約僱助理

摘 要

台灣毛豆接種大豆根瘤菌推廣應用計畫始自年秋冬裡作，至目前尚在高屏地區擴大辦理，其目的是教導農民在栽培毛豆時使用大豆根瘤菌以代替高量的化學肥料施量，並於毛豆田裡減少氮素的用量。其結果為毛豆接種大豆根瘤菌後施用化學肥料$N-P_2O_5-K_2O$=20-60-60公斤／公頃之處理較僅施用化學肥料$N-P_2O_5-K_2O$=60-60-60 公斤／公頃之處理(三要素推薦區)其合格莢產量從1988年秋作至1991年春作4年6作的平均增產6-12% 強，較農民慣行重肥區(N: 102-176公斤／公頃,P_2O_5: 130-166 公斤／公頃，K_2O: 120-164公斤／公頃)增產12-17%左右,1991年秋至1993年春2年4作的平均接種根瘤菌後施$N-P_2O_5-K_2O$=20-60-60公斤／公頃較農民慣行重肥區(N: 76-106公斤／公頃，P_2O_5: 80-120公斤／公頃,K_2O: 100-115公斤／公頃)，增產8%左右。其根瘤數及根瘤重分別較三要素推薦區增加為35.2%及35.4%，較農民慣行區增加有41.5%及54%,由於毛豆使用生物肥料之效果顯著，農民投入種植毛豆之肥料成本已由1989年6,876 元／公頃逐漸減少至1993春為4,173元/公頃，約減少39%的化學肥料量及成本。從毛豆合格莢產量較農民慣行重肥區增加8-17%及肥料的投入成本每公頃減少 2,169-4,875元，因此農民每公頃獲益為4,338-15,635元，從1988年春至1993年春累積使用生物肥料面積共13,532公頃,農民共獲益為140,605,570元以上。

關鍵字：毛豆、根瘤菌、推廣應用.

前 言

大豆（*Glycine Max* L.）之莢果發育至R_6-R_7期時種仁已飽滿，莢仍是綠色時將鮮莢果採收下來食用(table use)稱之為毛豆。其生育日數隨著品種及栽培季節的不同而有所差異，就目前的栽培品種而言在春作約70-80天，秋作65-70天，由於生育期短，管理容易，利潤尚可，因此栽培面積已由1983年的5,012公頃至1992年已是10,728公頃[13],增加一倍以上，因此毛豆在高屏地區已變成主要經濟作物之一。近年來台灣所生產之毛豆大部份均經過冷凍加工外銷日本,因此已漸漸變成重要的加工蔬菜,優良品質是日本市場的最基本要求，外觀、種仁軟硬度及風味是改善毛豆品質之要件，外觀之標準是每莢須有二種仁以上，莢長是4.5公分，莢寬1.3公分,種實已是7分飽滿莢乃是綠色，莢重量為275莢至少有575公克以上，種仁軟、風味佳[10,12]，為符合外銷條件的要求,品種的改良,栽培技術改進如種植時期、灌溉、肥培管理及收獲時間、採收後處理及冷凍加工技術等都必需注意才能生產高品質之毛豆。在民國60-70年間農民採收毛豆是將植株距土面3-5公分處割下後，將植株(包括有莖、葉柄、葉、莢果)用三輪貨車搬運至地磅處稱重後給款，因此農民均希望有茂盛的植株就可能得較重的毛豆，也無形中養成重施化學肥料的不良習慣，根據調查結果在高屏地區農民種植毛豆肥料的施量是比推薦量($N-P_2O_5-K_2O$=60-60-60 kg/ha)高出許多，氮素為1.8-3.7倍，磷酐1.8-3.0倍，氧化鉀1.4-2.7倍[14]，此種重

施生理酸性化學肥料易使農田加速酸化,且超量的化學肥料如作物吸收不完滲透土壤下層有可能污染地下水，因此，毛豆根瘤菌推廣應用之目的，在於指導農民種植毛豆時接種大豆根瘤菌以減少氮素化學肥料的施量，使接種大豆的根瘤菌之毛豆發揮固氮作用之效果，以期減少施肥成本，增加農民收益。

材料與實施方法

毛豆之品種爲高雄選一號、鶴之子205(tzuzunoko 205),大豆根瘤菌由中興大學楊秋忠教授提供，1991年前採用慢生型之菌種(*Bradyrhizobium Japonicum*)，1991年後改採快生型之菌種(*Rhizobium Fredii*),歷年來觀察區設置之處數如表一

表一、歷年來觀察區設置之處數

年度	1988		1989		1990		1991		1992		1993	
	春	秋	春	秋	春	秋	春	秋	春	秋	春	秋
處數	2	7	6	6	6	7	6	4	4	5	3	5

觀察區每一小區面積爲100平方公尺，示範區集合鄰近種植毛豆之農民組織10公頃爲一班，設班長爲一人，每公頃設有一按照農民慣行重肥之施法爲對照區以資比較接種大豆根瘤菌之效果,實施方法係將欲播的毛豆種子量每0.1公頃約爲12-15 公斤先均勻的撒下粉末狀黏著劑後將豆種用手翻轉幾下使黏著劑能均勻分配置豆種粒中，再將180 cc之大豆根瘤菌液灑在豆種上即時翻轉幾下，使菌液藉著黏著劑之作用滲黏在豆種上，惟恐滲進的菌液豆種吸收不完而使豆種皮膨脹,隨著將碳末倒下使之吸收未被豆種吸完之菌液，如果欲接種菌根菌，可以菌根菌代替碳末來吸收剩餘之菌液,隨著即可播種,接種大豆根瘤菌之毛豆種子攜至田間時,必須置於陰涼處,不可曝曬於田間使溫度昇高不利於根瘤菌之生存而影響接種效果,本示範推廣觀察區之處理並非每一年均相同，特以表二、表三、表四、表五加以說明。

表二、1988年春作觀察區之試驗處理

處理代號	化學肥料施量(kg/ha)			接種大豆根瘤菌與否
	N	P_2O_5	K_2O	
1	農民慣行重肥施用量			不接種
2	0	63	60	接　種
3	21	63	60	接　種

表三、1988年秋作至1990年春作觀察區之試驗處理

處理代號	化學肥料施量(kg/ha)			接種大豆根瘤菌與否
	N	P_2O_5	K_2O	
1	農民慣行重肥施用量			不接種
2	60	60	60	不接種
3	0	60	60	不接種
4	0	60	60	接　種
5	20(基肥)	60	60	接　種
6	20(追肥)	60	60	接　種

表四、1990年秋作至1991年春作觀察區之試驗處理

處理代號	化學肥料施量(kg/ha)			接種大豆根瘤菌與否
	N	P_2O_5	K_2O	
1	農民慣行重肥施用量			不接種
2	60	60	60	不接種
3	0	60	60	不接種
4	0	60	60	接　種
5	20(基肥)	60	60	接　種
6	60(20基追)	60	60	接　種

表五、1991年秋作至1993年秋作觀察區之處理

	化學肥料施用量			接種大豆根瘤菌與否
處理	N	P_2O_5	K_2O	
1	農民慣行重肥施用量			不接種
2	20(基肥)	60	60	接　種

示範推廣成果與討論

一、 毛豆接種大豆根瘤菌及不同氮肥施量對毛豆植株高度之影響

毛豆植株之高度易受氣候環境，日照長短，肥料施量等因素所影響，一般而言春作或夏作植株高度均較秋作或秋冬裡作之植株爲高。根據幾年來之示範推廣結果發現毛豆接種大豆根瘤後植株有稍矮化的現象，在同樣施用磷酐(P_2O_5)及氧化鉀(K_2O)各60公斤／公頃不施氮素之條件下,有接種大豆根瘤菌者在1989年春作三處平均植株高度只有35.4公斤，不接種大豆根瘤菌者爲35.6公分，在1990年秋作七處平均植株高度有接種大豆根瘤菌爲30.6公分，無接種大豆根瘤菌者31.7公分，二者比較相差1.1公分之多(如表六)，洪阿田(1990)在大豆接種根瘤菌及菌根菌後施肥技術研究之試驗結果謂大豆株高不因接種菌而提昇[8]。王錦堂(1988)在施用根瘤菌及內生菌根對春作大豆生長效應之研究結果指出在接種根瘤菌不施氮肥及施氮肥40kg／ha情形下，接種大豆根瘤菌之株高較不接種者爲高[1]，此與筆者所獲之結果剛好相反，是否因高屏地區年植大豆或毛豆在土壤中已存有大量之根瘤菌，因而接種大豆根瘤菌所獲之效益不如中部地區，或著是氣候環境之不同而所獲之結果亦不同實有進一步探討的必要。從表六中獲知農民慣行重肥區因施超量的肥料植株生長反而受到抑制尤以春作更爲嚴重。

表六、毛豆接種大豆根瘤菌及氮素施量對植株高度之影響比較

	處		理	植株高度	
	氮素	磷酐	氧化鉀	——公分——	
	——公斤／公頃——			1989春作(3處平均)	1990秋作(7處平均)
1.	農民慣行施肥量				
	98,124	169,135	144,125	31.6	30.6
2.	60	60	60	34.1	31.1
3.	0	60	60	35.6	31.7
4.	0	60	60+R_1*	35.4	30.6
5.	20(T)**	60	60+R_1	33.7	—
	60(20B40T)	60	60+R_1	—	31.2
6.	20(B)***	60	60+R_1	34.9	30.7

註：R_1：接種大豆根瘤菌；T**：氮肥追施，磷鉀肥基肥；B***：氮磷鉀肥基施，農民慣行施量春作爲3處平均，秋作爲7處平均。

二、 毛豆接種大豆根瘤菌及不同氮肥施量對其根瘤數、根瘤重的影響

毛豆接種大豆根瘤菌後每公頃施用氮素公斤或是不施氮素其根瘤數較不接種不施氮素但同樣施用磷酐60公斤／公頃，氧化鉀60公斤／公頃之處理增加9～11%左右，較同是接種但每公頃施N-P_2O_5-K_2O=60-60-60公斤／公頃之處理增加根瘤數27～29%之多，由此可見毛豆之根瘤數隨著氮素肥料之施量而減少，其氮素肥料可忍受的程度約20-30公斤／公頃，超過此施量則根瘤數就減少(如表七)。

表七、毛豆接種大豆根瘤菌及氮素施量對其單株根瘤數及根瘤重影響比表

	處		理	播種後45天			
	氮素	磷酐	氧化鉀	根瘤數		根瘤重	
	公斤／公頃			粒/株	指數(%)	公克/株	指數(%)
1.	農民慣行施肥量*						
	124	135	125	27.0	100	1.13	100
2.	60	60	60	28.7	106.3	1.34	118.6
3.	0	60	60	35.7	132.2	1.64	145.1
4.	0	60	60+R_1**	38.6	143.0	1.80	159.3
5.	60	60	60+R_1	30.9	114.4	1.37	121.2
6.	20	60	60+R_1	38.2	141.5	1.74	154.0

* 農民慣行施肥量係7處之平均；R_1**接種大豆根瘤菌。

毛豆接種大豆根瘤菌後單株根瘤重亦增加很多，施等量肥料之處理3及處理4，有接種的處理單株根瘤重為1.80公克較不接種者增重有14%左右，接種後施氮素20公斤／公頃之處理6單株根瘤重亦較其他處理為重，同樣有接種大豆根瘤菌但施氮素60公斤／公頃其單株根瘤重只有1.37公克，雖然較不接種大豆根瘤菌同樣施氮素60公斤之處理為重，但僅增加2%左右，由此可見單株根瘤之重量，亦與施用氮素肥料量的多寡有密切的關係，施氮素量超過20公斤／公頃以上根瘤數及根瘤重就很明顯的降低。洪阿田(1991)在大豆接種根瘤菌及菌根菌後施肥技術研究報告中指出，大豆根瘤數及根瘤重接種根瘤菌無氮肥之處理，較不接種無氮肥之處理為多且重，施用氮肥後則根瘤數較少且輕，更隨著施氮素量之增多而遞減[8]，高德錚(1984)曾指出豆農每公頃施用20-50公斤氮素造成豆葉濃綠根瘤數稀少，有效根瘤比率低[5]。王錦堂(1988)在施用根瘤菌及內生菌根對春作大豆生長效應研究報告中指出，接種根瘤菌在不施氮肥情形下，接種根瘤菌之根瘤數較不接種根瘤菌者有30倍的增加率，差異極顯著，在施40公斤／公頃氮素情形下接種菌較不接種菌之根瘤數增加倍[1]，毛豆係種仁已飽滿但莢仍是綠色即以採收來食用之大豆，所以接種根瘤菌可增加根瘤數及根瘤重，但隨著氮素施量之增加根瘤數及根瘤重即以遞減之效應是與大豆相同的。

三、 毛豆接種大豆根瘤菌及不同氮肥施量對毛豆合格莢產量之影響

毛豆接種大豆根瘤菌可促使單株之合格莢產量增加，在1989年春作調查三處所獲之結果在施磷酐及氧化鉀各60公斤／公頃之情況下，有接種根瘤菌不施氮肥之處理(處理4)較無接種根瘤菌不施氮肥之處理合格莢產量分別爲17.3克／株及15.5克／株增加12%之多，接種大豆根瘤菌後基施或是追施20公斤／公頃之氮素肥料單株合格莢重更佳(如表八)

表八、毛豆接種大豆根瘤菌及氮素施量對單株合格莢重影響比較

處			理	鹽埔	美濃(福安)	美濃(廣林)	平均	指數
	氮素	磷酐	氧化鉀					
	———公斤／公頃———			———公克／株———				%
1.	農民慣行施肥量*							
	98	169	144	18.0	12.8	13.7	14.8	100
2.	60	60	60	15.8	14.0	18.0	15.9	107.4
3.	0	60	60	15.0	13.4	18.1	15.5	104.7
4.	0	60	60+R_1**	18.6	14.8	18.5	17.3	116.9
5.	20(追施)	60	60+R_1	18.5	15.0	19.3	17.6	118.9
6.	20(基施)	60	60+R_1	18.1	16.5	19.0	17.9	120.9

* 農民慣行施肥量係三處施量平均，R_1**：接種大豆根瘤菌。

再從1988年秋作或1990年春四期作及1990年秋、1991年春二期作公頃合格莢產量所獲之結果，可以明顯的看出在均不施氮肥及施等量之磷鉀肥情況下，接種根瘤菌可較不接種者提高合格莢產量分別爲9.8%及10.4 %，如果接種大豆根瘤菌後再施用氮素20公斤／公頃，則可獲得更高之毛豆之合格莢產量，其較不施氮肥接種根瘤菌之處理(處理4)增產3.5%以上，較三要素推荐區(N-P_2O_5-K_2O=60-60-60公斤／公頃)之處理(處理2)增產6～12%，較不接種農民慣行施量區之處理(處理1)增產12%以上(如表九、表十)。再就1988年秋冬裡作及1989年春作之合格莢產量以地點當爲重複次數，先作變異係數(C.V)分析，結果1988年秋冬裡作變異係數爲10.16，1989年春作變異係數爲11.13，因此更一步的作合格莢產量之變方分析，結果1988年秋裡作接種根瘤菌後基施N-P_2O_5-K_2O=20-60-60公斤／公頃之處理其合格莢產量較不接種根瘤菌之三處理(處理1、2、3)之差異均達5%的顯著性測驗水準，1989年春作接種根瘤菌基施N-P_2O_5-K_2O=20-60-60公斤／公頃之處理(處理6)及氮素20公斤／公頃作追施磷酐及氧化鉀各60公斤／公頃作基施之處理(處理5)均較農民慣行施肥區(處理1)及三要素推薦區(處理2)之差異亦達5%顯著性測驗水準(如表十)。

表九、毛豆接種大豆根瘤菌及氮素施素施量對毛豆合格產量影響比較(一)

	處		理						
	氮素	磷酐	氧化鉀	1988秋	1989春	1989秋	1990春	平均	指數
	------公斤/公頃------			-------------公斤/公頃-------------					%
1	農民慣行重肥施用量*			5159	5181	8240	4883	5866	100
2	60	60	60	5329	5340	8609	5267	6136	104.6
3	0	60	60	4911	5641	8353	5291	6049	103.1
4	0	60	$60+R_I$**	5972	6017	9073	5435	6624	112.9
5	20(追施)	60	$60+R_I$	5668	6355	9309	5989	6830	116.4
6	20(基肥)	60	$60+R_I$	6098	6178	9491	5811	6895	117.5
7	60(20基追)	60	$60+R_I$	—	—	—	—	—	—

* 農民慣行重肥施用量$N-P_2O_5-K_2O$，1988年秋作(6處平均)爲176-166-164公斤／公頃，1989年春作(6處平均)爲107-164-85公斤／公頃，1989年秋作(6處平均)爲147-164-85公斤／公頃，1990年春作(6處平均)爲105-135-120公斤／公頃。

R_I**：接種大豆根瘤菌。

表十、毛豆接種大豆根瘤菌及氮素施量對毛豆合格產量影比較(二)

	處		理				
	氮素	磷酐	氧化鉀	1990 秋	1991 春	平均	指數
	---------公斤/公頃--------			-------------公斤/公頃-------------			%
1	農民慣行重肥施用量*			8463	11125	9794	100
2	60	60	60	9117	11628	10373	106.1
3	0	60	60	7216	11112	9164	93.6
4	0	60	$60+R_I$**	9073	11305	10819	104.0
5	20(追施)	60	$60+R_I$	—	—	—	—
6	20(基肥)	60	$60+R_I$	9735	12257	10996	112.3
7	60(20基追)	60	$60+R_I$	9418	11678	10548	107.7

* 農民慣行重肥施用量$N-P_2O_5-K_2O$，1990年秋作(7處平均)爲124-135-125公斤／公頃，1991年春作(7處平均)爲102-130-125公斤／公頃。

R_I**：接種大豆根瘤菌。

表十一、1988年秋冬裡作及1989年春作合格莢產量之差異

	處		理	1988年秋冬裡作		1989年春作	
	氮素	磷酐	氧化鉀	合格莢產量	指數	合格莢產量	指數
	--------公斤／公頃--------			公斤／公頃	%	公斤／公頃	%
1	農民慣行重肥施用量*			5159 cd	100	5181 c	100
2	60	60	60	5329 bcd	103.30	5340 bc	103.07
3	0	60	60	4911 d	95.19	5641 abc	108.08
4	0	60	60+R_I	5972 ab	115.76	6017 ab	116.14
5	20(追施)	60	60+R_I	5668 abc	109.87	6355 a	122.65
6	20(基肥)	60	60+R_I	6098 a	118.20	6178 a	119.24

註 1. 因為資料來源自不同鄉鎮，恐各地區條件不同影響其準確性，因而加以分析c.v. 結果c.v.值分別為10.16及11.13。

2. 英文字母相同者表示差異不顯著，英文字不同者表示差異達5%顯著水準。

由表九、表十及表十一得知毛豆接種大豆根瘤菌,確有使毛豆合格莢產量增產之效果，雖然土壤中有或多或少的根瘤菌，但其所形成根瘤的固氮效率不齊一，為了確保豆科植物的根部有更多的有效根瘤。因此需要接種經選出的優良菌種，使有效根瘤增加，如此才能固定大量氮素，供應豆科作物之氮素養分，而減少施用氮素肥料[11]，本示範觀察接種大豆根瘤而施用氮素公斤／公頃之處理(處理5及6)之毛豆的合格莢產量之所以高於不接種根瘤菌施重量氮肥之處理(處理1及2)，或接種根瘤菌施用氮肥60公斤／公頃之處理，實是接種優良大豆根瘤菌所產生之效果之一明證。在大豆方面亦有種植時接種固定接種劑(大豆根瘤菌)更能確保生產量，達到增產，減少氮肥用量降低生產成本增加農民收益[2,3,4,6,7,8,9,14,15,16]。

四、 毛豆接種大豆根瘤後農民收益已顯著的增加

由於毛豆接種大豆根瘤菌後施用氮素20公斤／公頃可使合格莢產量較農民慣行施肥量提高有8-17%以上，而且施用氮素量又減少有80公斤／公頃以上，因此生產所需之肥料成本亦相對的減少，當然，獲益也就增加了，茲將從1988年秋冬裡作示範推廣大豆根瘤菌以來之收益情形列表於下供作參考(如表十二、表十三、表十四、表十五、表十六、表十七、表十八、表十九、表二十)。

表十二、1988年秋冬裡作示範觀察區之生產值、施肥成本及收益調查表

處	理			1988 年秋冬裡作				
	氮	磷酐	氧化鉀	合格莢產量	生產值 I	施肥成本 II	I－II	比較
	-----公斤/公頃-----			(公斤/公頃)	------------公斤/公頃------------			
1.	農民慣行施肥區 176,107:166,164:164,85			5,159	43,852	7,884	35,968	0
2.	三要素推薦區 60	60	60	5,329	45,297	2,784	42,513	6,545
3.	0	60	60	4,911	41,744	1,613	40,131	4,163
4.	0	60	60+R_l	5,972	50,762	1,613	49,149	13,181
5.	20(追)	60	60+R_l	5,668	48,178	2,004	46,174	10,206
6.	20(基)	60	60+R_l	6,098	51,833	2,004	49,829	13,861

註：表中R_1係接種大豆根瘤菌，1988年秋冬裡作合格莢產量及農民慣行區施肥量係7處平均，毛豆時價8.5元/公斤。施肥成本按硫銨4.1元/公斤、過磷酸鈣3.4元/公斤、氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

表十三、1989年作春作示範觀察區之生產值、施肥成本及收益調查表

	處理			1989 年春作				
	氮	磷酐	氧化鉀	合格莢產量	生產值 I	施肥成本 II	I－II	比較
	------公斤/公頃-----			(公斤/公頃)	------------公斤/公頃------------			
1.	農民慣行施肥區 176,107:166,164:164,85			5,181	46,629	5,867	40,762	0
2.	三要素推薦區 60	60	60	5,340	48,060	2,784	45,276	4,514
3.	0	60	60	5,641	50,769	1,613	49,156	8,394
4.	0	60	60+R_l	6,017	54,153	1,613	52,540	11,778
5.	20(追)	60	60+R_l	6,355	57,195	2,004	55,191	14,429
6.	20(基)	60	60+R_l	6,178	55,602	2,004	53,598	12,836

註：表中R_1係接種大豆根接菌1989年春作合格莢產量及農民慣行區施肥量係6處平均，毛豆時價9元/公斤。施肥成本按硫銨4.1元/公斤、過磷酸鈣3.4元/公斤、氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

由表十二、表十三得知1988秋冬裡作接種大豆根瘤菌後基施氮素20公斤/公頃、磷酐60公斤/公頃及氧化鉀60公斤/公頃之處理(處理6)較農民慣行施肥區增加收益為13,861元/公頃，在1989春作接種大豆根瘤菌後追施氮素20公斤/公頃基施磷酐及氧化鉀各60公斤/公頃之處理(處理5)較農民慣民慣行施行區增加收益為14,429元/公頃。

表十四、1989年秋冬裡作春作示範觀察區之生產值、施肥成本及收益調查表

處		理	1989 年秋冬裡作				
氮	磷酐	氧化鉀	合格莢產量	生產值 I	施肥成本 II	I－II	比較
——公斤/公頃——			(公斤/公頃)	——公斤/公頃——			
1. 農民慣行施肥區 147,105:135,135:120,120			8,240	74,160	6,380	67,780	0
2. 三要素推薦區 60	60	60	8,609	77,481	2,784	74,697	6,917
3. 0	60	60	8,353	75,177	1,613	73,564	5,784
4. 0	60	60+R_I	9,073	81,657	1,613	80,044	12,264
5. 20(追)	60	60+R_I	9,309	83,781	2,004	81,777	13,997
6. 20(基)	60	60+R_I	9,491	85,419	2,004	83,415	15,635

註：表中R_I係接種大豆根瘤菌，1989年秋冬裡作合格莢產量及農民慣行區施肥量係6處平均，毛豆時價9元/公斤，施肥成本按硫銨4.1元/公斤、過磷酸鈣3.4元/公斤、氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

表十五、1990年春作示範觀察區之生產值、施肥作本及收益調查表

處		理	1990 年春作				
氮	磷酐	氧化鉀	合格莢產量	生產值 I	施肥成本 II	I－II	比較
——公斤/公頃——			(公斤/公頃)	——公斤/公頃——			
1. 農民慣行施肥區 147,105:135,135:120,120			4,883	43,947	5,560	38,387	0
2. 三要素推薦區 60	60	60	5,267	47,403	2,784	44,619	6,232
3. 0	60	60	5,291	47,619	1,613	46,006	7,619
4. 0	60	60+R_I	5,435	48,915	1,613	47,302	8,915
5. 20(追)	60	60+R_I	5,989	53,901	2,004	51,897	13,510
6. 20(基)	60	60+R_I	5,811	52,299	2,004	50,295	11,908

註：表中R_I係接種大豆根瘤菌，1990年春作合格莢產量及農民慣行區施肥量係6處平均，毛豆時價9元/公斤。施肥成本按硫銨4.1元/公斤、過磷酸鈣3.4元/公斤、氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

由表十四、十五得知秋冬裡作接種大豆根瘤菌後基施氮素20公斤/公頃、磷酐60公斤/公頃及氧化鉀60公斤/公頃之處理(處理6)每公頃較農民慣行施肥區增加收益爲15,635元/公頃，在1990年春作接種大豆根瘤菌後追施氮素20公斤/公頃基施磷酐及氧化鉀各60公斤/公頃之處理(處理5)較農民慣民慣行施行區增加收益每公頃爲13,510元/公頃。

表十六、1990年秋冬裡作示範觀察區之生產值、施肥成本及收益調查表

	處	理		1990 年秋冬裡作				
	氮	磷酐	氧化鉀	合格莢產量	生產值 I	施肥成本 II	I－II	比較
	-----公斤/公頃-----			(公斤/公頃)	-----------公斤/公頃-----------			
1.	農民慣行施肥區			8,643	77,787	5,971	71,816	0
	124,102:135,130:125,125							
2.	三要素推薦區			9,117	82,053	2,784	79,269	7,453
	60	60	60					
3.	0	60	60	7,216	64,944	1,613	63,331	-8,485
4.	0	60	60+R_I	9,073	81,657	1,613	80,044	8,228
5.	60(20基40追)	60	60+R_I	9,418	84,762	2,004	81,978	10,162
6.	20(基)	60	60+R_I	9,735	87,615	2,004	85,611	13,795

註：表中R_I係接種大豆根瘤菌，1990年秋冬裡作合格莢產量及農民慣行區施肥量係7處平均，毛豆時價9元/公斤。施肥成本按硫銨4.1元/公斤、過磷酸鈣3.4元/公斤、氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

表十七、1991年春作示範觀察區之生產值、施肥成本及收益調查表

	處	理		1991 年春作				
	氮	磷酐	氧化鉀	合格莢產量	生產值 I	施肥成本 II	I－II	比較
	-----公斤/公頃-----			(公斤/公頃)	-----------公斤/公頃-----------			
1.	農民慣行施肥區			11,125	100,125	5,543	94,582	0
	124,102:135,130:125,125							
2.	三要素推薦區			11,628	104,652	2,784	101,848	7,286
	60	60	60					
3.	0	60	60	11,112	100,008	1,613	98,395	3,813
4.	0	60	60+R_I	11,305	101,745	1,613	100,132	5,550
5.	60(基 追40)	60	60+R_I	11,678	105,702	2,004	102,318	7,736
6.	20(基)	60	60+R_I	12,257	110,313	2,004	108,309	13,727

註：表中R_I係接種大豆根瘤菌，1991年春作合格莢產量及農民慣行區施肥量係7處平均，毛豆時價9元/公斤。施肥成本按硫銨4.1元/公斤、過磷酸鈣3.4元/公斤、氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

從表十六及表十七得知接種大豆根瘤菌後基施氮素20公斤/公頃，磷酐及氧化鉀各60公斤/公頃之處理(處理6)無論是1990年秋冬裡作及1991年春作所獲之收益分別爲85,611元/公頃及108,309元/公頃較農民慣行施肥區增加分別爲13,795元/公頃及13,727元/公頃，接種根瘤菌後基施氮素20公斤，磷酐及氧化鉀各60公斤/公頃，並於播種後15天追施氮素40公斤/公頃之處理(處理5)其合格莢產量並沒有比僅施氮素20公斤/公頃之處理(處理6)爲高，由此可見在有接種大豆根瘤菌後實在沒有需要再施大量的氮素肥料。

表十八、1991年秋冬裡作示範觀察區之生產值、施肥成本及收益調查表

	處	理		1991 年秋冬裡作				
	氮素	磷酐	氧化鉀	合格莢產量 公斤／公頃	生產值 I	施肥成本 II	I－II	比較
	------公斤／公頃------			------------公斤／公頃------------				
1	農民慣行重肥施用量 96,106:120,108:115,110			7,200	54,000	5,054	48,946	0
2	20	60	60+R_I	7,960	59,700	2,004	57,696	8,750

註：表中R_I係接種大豆根瘤菌，1991年秋冬裡作合格莢產量及農民慣行施肥區施肥量係4處平均，毛豆時價7.5元/公斤，施肥成本按硫銨4.1元/公斤，過磷酸鈣3.4元/公斤，氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

由於農民慣行施肥量一年比一年減少，因此其所投入之施肥成本亦相對的減少，在1991年秋冬裡作接種大豆根瘤菌後基施氮素20公斤/公頃，磷酐60公斤/公頃，及氧化鉀60公斤/公頃之處理(處理2)較農民慣行施肥區僅增加收益8,750元/公頃，1992年春作亦僅增加收益9,174元/公頃(如表十九)。

表十九、1992年春作示範觀察區之生產值、施肥成本及收益調查表

	處	理		1992 年春作				
	氮素	磷酐	氧化鉀	合格莢產量 公斤/公頃	生產值 I	施肥成本 II	I－II	比較
	------公斤/公頃------			------------公斤/公頃------------				
1	農民慣行重肥施用量 96,106:120,108:115,110			5,095	43,308	4,735	38,573	0
2	20	60	60+R_I	5,853	49,751	2,004	47,747	9,174

註：表中R_I係接種大豆根瘤菌，1992年春作合格莢產量及農民慣行施肥區施肥量係4處平均，毛豆時價爲8.5 元，施肥成本按硫銨4.1元/公斤，過磷酸鈣3.4 元/公斤，氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

表二十、1992年秋冬裡作示範觀察區之生產值、施肥成本及收益調查表

	處		理	1992 年秋冬裡作				
				合格莢產量	生產值	施肥成本	Ⅰ－Ⅱ	比較
	氮素	磷酐	氧化鉀	公斤/公頃	Ⅰ	Ⅱ		
	------公斤/公頃------			--------------公斤/公頃--------------				
1	農民慣行重肥施用量 96,78: 100,92: 90,90			6,602	56,117	4,371	51,746	0
2	20	60	60+R_I	6,914	58,769	2,004	56,765	5,019

註：表中R_I係接種大豆根瘤菌，1992年秋冬裡作合格莢產量及農民慣行區施肥量係5處平均，毛豆時價爲8.5元/公斤，施肥成本按硫銨4.1 元/公斤，過磷酸鈣3.4元/公斤，氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

在1992年秋冬裡作及1993年春作接種大豆根瘤菌後，每公頃基施氮素20公斤，磷酐及氧化鉀各60公斤之處理(處理2)較農民慣行施肥區(處理1)增加收益分別爲5,019元/公頃及4,338元/公頃(如表二十、二十一)。

表二十一、1993年春作示範觀察區之生產值、施肥成本收益調查表

	處		理	1993 年春作				
				合格莢產量	生產值	施肥成本	Ⅰ－Ⅱ	比較
	氮素	磷酐	氧化鉀	公斤/公頃	Ⅰ	Ⅱ		
	-----公斤／公頃-----			--------------公斤/公頃--------------				
1	農民慣行重肥施用量 96,78: 100,92: 90,90			6,401	51,208	3,974	47,234	0
2	20	60	60+R_I	6,697	53,576	2,004	51,572	4,338

註：表中R_I係接種大豆根瘤菌，1993年春作合格莢產量及農民慣行區施肥量係3處平均，毛豆時價8元/公斤，施肥成本按硫銨4.1元/公斤，過磷酸鈣3.4元/公斤，氯化鉀4.8元/公斤換算而成，本表未計算大豆根瘤菌之成本。

顯然的，從1988年秋冬裡作接種大豆根瘤菌後每公頃基施氮素20公斤，磷酐及氧化鉀各60公斤之處理，較農民慣行施肥區處理增加收益13,861元／公頃而來，由於農民已體會到施重氮肥並不利於毛豆之生長及莢之生產，因此肥料之用量已逐年遞減中，相反的毛豆的合格莢產量亦與接種大豆根瘤菌之處理漸漸的接近，在施肥成本減少，產量又逐漸接近接種區之雙重增進下，至1993年春作接種大豆根瘤菌之處理，較農民慣行施肥之處理僅增加4,338元／公頃，與示範推廣之初之比較其成果斐然。

五、 農民之施肥量及施肥成本已逐年遞減

從圖一得知1989年度農民慣行區施肥成本(1988年秋冬裡作與1989年春作之平均)爲每公頃6876元，至1993年春作已遞減4173元，雖然施肥成本較1989年度減少39%以上，但與毛豆施肥推荐量每公頃施$N-P_2O_5-K_2O$=60-60-60公斤之施肥成本2784元／公頃之相距仍很大，因此大豆根瘤菌在高屏地區之推廣應用在降低施肥量及施肥成本方面已獲得成果，但距離目標(接種大豆根瘤菌後每公頃施用氮素20公斤磷酐60公斤及氧化鉀60公斤)仍相距甚遠，需要再努力辦理示範推廣以達到降低施肥成本增加收益之目標。

六、 歷年來毛豆接種大豆根瘤菌之面積及農民獲益情形

大豆或毛豆接種大豆根瘤菌之推廣應用計畫始自1987年秋冬裡作，當時只有在萬丹及潮州等做毛豆接種大豆根瘤菌之小面積示範，在橋頭、岡山做大豆接種大豆根瘤菌的示範，但由於大豆之栽培面積一年比一年減少，且對於接種大豆根瘤菌之效果不如毛豆來得大，因此從1987年春作以來，每年毛豆接種大豆根瘤菌之面積逐年擴大，至1991年已達3,100公頃,目前均維持在3,500公頃以上，從毛豆接種大豆根瘤菌之推廣應用以來至1993年春作總共接種面積已達13,532公頃，農民獲益更達140,605,570元(如表二十二)，雖然接種面積已有3,500公頃，但台灣毛豆之栽培面積有10,728公頃[13]左右,接種之面積約爲栽培面積三分之一左右，且至目前農民之施肥量仍較本推廣應用計畫之施肥量目標仍有一段距離，因此必須加以調查農民降低施肥量不很積極的原因何在，然後對症下藥才可達到事半功倍之效果。

表二十二、歷年來毛豆接種大豆根瘤菌之面積及收益情形比較表

年別	期作別	接種面積(公頃)	接種區較農民慣行施肥區增加收益(元／公頃)	接種大豆根瘤總收益(元)
77	春	112	13,790	1,544,480
	秋	760	13,861	10,534,360
78	春	610	14,429	8,801,690
	秋	1,220	15,635	19,074,700
79	春	830	13,510	11,213,300
	秋	1,840	13,795	25,382,800
80	春	1,210	13,729	16,609,670
	秋	1,890	8,750	16,537,500
81	春	1,580	9,175	14,496,500
	秋	1,930	5,019	9,686,670
82	春	1,550	4,338	6,723,900
合計		13,532		140,605,570

結　語

從毛豆化學肥料之需要量、有機質肥料配合化學肥料之施量及微生物肥料與化學肥料之配合使用等試驗結果，毛豆之肥培管理應是接種大豆根瘤菌後施用氮素肥料每公頃20公斤，磷酐40-80公斤及氧化鉀60公斤。若是農田土壤之有機質含量低於2%，應考慮施用2,000公斤／公頃之雞糞堆肥或是3,000公斤之豬糞堆肥，若加入堆肥之農田則磷酐或氧化鉀之用量可考慮減半。爲了維護農田的永續性，在毛豆之肥培管理上降低化學肥料之施量，酌於加入有機質肥料及接種大豆根瘤菌應是目前毛豆最合理之肥培管理方法。

參考文獻

1. 王錦堂 1988 施用根瘤菌內生菌根對春作大豆生長效應之研究。土壤肥料試驗報告 台灣省政府農林廳編印 pp.102-109。
2. 吳敏慧 1958 台灣豆科根瘤人工接種問題之研究。農林學報 7：131-178。
3. 吳敏慧 1959 優良大豆根瘤菌選拔試驗(一)。農林學報 8：83-87。
4. 吳敏慧 1964 優良大豆根瘤菌選拔試驗(二)。農林學報 13：11-13。
5. 高德錚 林安秋 1984 高屏地區秋裡作大豆根瘤活性之態調查第一報禾根豆栽培之根瘤生育調查。科學發展月刊 11.12-2：1409-1418。
6. 高德錚 1993 大豆根瘤菌固氮生理之研究。博士論文 pp.108-151
7. 洪阿田、羅瑞生、許秋玫 1990 高屏地區毛豆施用微生物肥料(大豆根瘤菌)示範推廣成果。豆類作物土壤及肥培管理專集 台灣省高雄區農業改良場編印 pp.234-252。
8. 洪阿田 1991 大豆接種根瘤菌及菌根菌後施肥技術研究。土壤肥料試驗報告 台灣省政府農林廳編印 pp.47-59。
9. 黃定鼎、池美珍等 1980 大豆品種固氮作物活性與氮素分佈之比較。中華農業研究29(2)：93-102。
10. 鄒篪生、吳美慧、洪端良、蔡俊雄 1990 栽培管理對毛豆產量及品質影響。豆類作物土壤及肥培管理專集 台灣省高雄區農改良場編印 pp.136-148。
11. 楊秋忠 1990 生物肥料功效及應用微生物肥料在大豆及毛豆功效專輯。台灣省高雄區農業改良場編印 pp.3-6。
12. 鄭榮賢 1990 毛豆肥料需要量與施肥時期研究。豆類作物土壤與肥培管理專集 台灣省高雄區農業改良場編印 pp.62-73。
13. 台灣省政府農林廳 1993 台灣農業年報 6 蔬菜(15)毛豆 p.93。
14. HUNG, A. T. and 0. L. WU, 1992. Demonstration and Extension of Biofertilizer on Vegetable Soybean Production in Southern Taiwan Research Bulletin of Kaohsiung District Agricutural Improvement Station Volume 4 Number 1 pp.40-55.
15. Young, C. C., M. H. Wu, and T. C. Juang. 1982 The slection and Use of Rhizobium in Taiwan Food Fertilizer Technology Center, Technical Bulletin No. 66:1-9.

16. Young, C. C., T. C. Juang, and C.C. Chao. 1988b. Effects of Rhizobium and VA mycorrhiza Inoculation on nodulation, Symbiotic Nitrogen Fixation and Yield of Soybean in Subtropical-tropical Fields Biology and Fertility of soils (Germany) G:105-169.

討 論

台灣省農業試驗所陳甘澍問:

請問毛豆接種大豆根瘤菌，其接種方法爲何? 接種量需多少才有效?

高雄改良場洪阿田副研究員答:

將每分地所需接種量之毛豆種子約12-15公斤加入黏著劑(白色粉末)充份攪拌後再注入根瘤菌液180cc,使其與毛豆種皮充份的黏著後再用碳末吸乾未被吸完的剩餘菌液即爲接種完成。接種後之毛豆種子攜至田間接種時不要置於陽光下任其曝晒,最好置於陰乾之地方才能達到接種效果。

花蓮區農改場黃山內場長之建言:

根瘤菌在毛豆栽培上節省氮素肥料及提高有效夾數及農民收益有很大效益在洪副研究員之報告可以證明。但其根瘤菌係由農委會委託中興大學免費供應農民使用,每100 cc成本約爲30元,而每公頃約須使用1800 cc,約須540元。如果請廠商製造供應,在毛豆栽培面積10000公頃下,約可獲利360萬元(如果照每100 cc售價爲50元),要接洽廠商買賣製造銷售,但須投資約1000萬元再加上管理費用,穫得純益不多(估計約200萬元),故都沒有興趣。但基於環境保護與節省氮素肥料純源之立場確實有必要推廣此一生物肥料。談此一研討會中中央及省政府長官都有參與,建議能在農建計畫下繼續編到少數經費(約20萬)委請中興大學繼續供應,或者會更有廠商代表在此是否有人投資發售此一生物肥料(根瘤菌)。

Extension on the Use and Application of Rhizobia Inoculation of Vegetable Soybean in Taiwan

Hung, A. T. and Hsu, C. M.
Kaohsiung District Agricultural Improvement Station

Abstact

The extension on the use and application of rhizobia inoculation of vegetable soybean in Taiwan has been carried on the autumn of 1987 and still extension conducted on Kaoping area so far.The purpose of this project is to guide the farmers to use rhizobia inoculation instead of high rate of chemical fertilizer for cultivation of vegetable soybaen, with reduced rate of nitrogen fertilizer application for the vegetable soybean fields.The result showed that rhizobia inoculation with 20 kg/ha of nitrogen as basal appplication or top dressed at 15 days after sowing(treatment 6 and treatment 5)increased average graded pod yield by 6-12％ more than recommended rate of N-P_2O_5-K_2O=60-60-60 kg/ha (treatment 2), and 12-17% more than farmers'practice with the rate of N:P_2O_5:K_2O=102-176 kg/ha: 130-166 kg/ha: 120-164kg/ha (treatment 1) respectively. But when the farmers' practice reduced the rate of N:P_2O_5:K_2O=76-106 kg/ha: 80-120 kg/ha: 100-115kg/ha, the graded Pod of the treatment 6 only 8％ increased more than treatment 1 on the average of the total 4 crops in 3 years and the Period was from the autumn of 1991 to the spring of 1993. Further analysis varience for graded Pod yield showed that the difference between with rhizobia inoculation and without rhizobia inoculation were significant.

The number and weight of root nodule per plant,the treatment 6 by 35.2 ％35.4 ％more than treatment 2 and by 41.5 ％and 54％ more than treatment 1 respectively.

Due to the effectiveness of rhizobia inoculation on the use and application of the technology was smooth and successful,farmers investiment on fertilizer cost for the cultivation of vegetable soybean was NT $ /ha at 1989 and gradually reduced to NT $ 4173/ha at spring of 1993. It about decreased the fertilizer application rate and fertilizer cost around 39％ Per hectare.

The treatment 6 increased the graded Pod yield around 8-17％ more than the treatment 1,but reversely the fertilizer cost of treatment 1 increased around NT $ 2,169-NT 4,875/ha more than the treatment 6. Thereefore, the Profit of treatment 6 increased NT $ 4,338-15,635/ha more than treatment 1.The total area and the Profit of rhizobia inoculation was accumulated 13,532 hectare and NT $ 140,605,570 from the spring of 1988 to the spring 1993 respectively.

Key words: Vegetable, Soybean, Rhizobia, Use and Application.

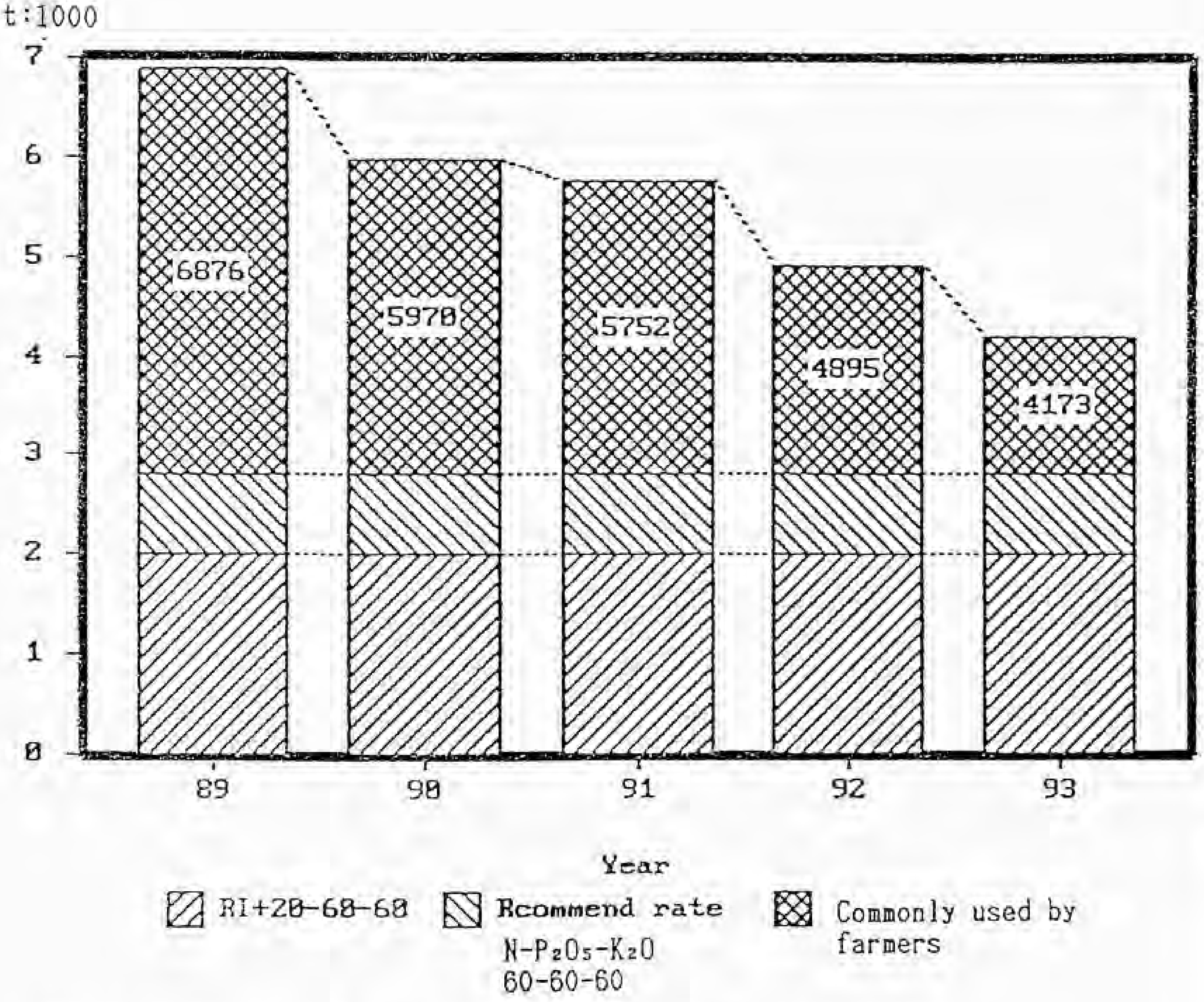


Fig 1. Comparison of the fertilizer cost of vegetable soyben

滿江紅與固氮藍綠藻之研究

簡宜裕　林錫錦　李啓彰
臺灣省農業試驗所農化系

摘　要

滿江紅是一種水生蕨類植物，滿江紅科、滿江紅屬。滿江紅屬有6種：*Azolla caroliniana*、*A. filiculoides*、*A. mexicana*、*A. microphylla*、*A. nilotica*、*A. pinnata*。本省原有之滿江紅只有*A. pinnata*一種。滿江紅葉分裂爲上下兩片，上裂葉浮在水面有氣孔，葉內側有許多黏液小穴，裡面有共生之固氮藍綠藻*Anabaena azollae*。滿江紅可培養於不含氮源之無機培養液中，養分最需要的是磷，其次爲鐵。照光度以1200 Lux最適合。最適宜生長的pH爲4.5-7.0。本省原有之*A. pinnata*品種較適合之生長溫度爲15-30℃。滿江紅因有固氮藍綠藻與之共生，固氮能力極強，可與水稻共作，插秧前先於田間培養滿江紅，在插秧前整地時犁入土壤中可以當做綠肥。插秧後即接種滿江紅，可以抑制水稻田大部份的雜草，其效果與施用"馬上除"效果相似。

固氮藍綠藻有*Anabaena*、*Nostoc*、*Calothrix*等14個屬。固氮藍綠藻是同時具有光合作用和固氮能力的生物，構造上通常以單細胞或聚成群狀、絲狀存在，但絲狀時才有固氮能力。國內固氮藍綠藻以*Nostoc*、*Anabaena*爲主，本研究室曾對影響*Nostoc* spp.生長的環境因子加以研究，得知本土*Nostoc* spp.生長適當的溫度爲30至35℃，生長環境之酸鹼度低於pH7則生長不易，最適照光度爲7000-9000Lux，硝酸態(NO_3^-)氮比銨態(NH_4^+)氮較容易被吸收利用，銨離子濃度爲5mM時會抑制藻的生長，*Nostoc* spp.固氮藍綠藻對微量元素的依賴性很高，缺乏鐵、鈷、鉬、錳、硼、銅、鋅中任何一種元素，則完全不能生長，此藻於生長初期由培養液中吸取氮量，比經由固氮作用後所釋出之氮量爲多，待異型細胞囊出現較多，固氮活性激增後才可能釋出較多量氮素於水溶液中。將*Nostoc* spp.固氮藍綠藻接種於盆栽水稻中，具有相當於每公斤土壤施用0.2公克硫酸銨的肥效。

關鍵字：滿江紅、藍綠藻、固氮作用

前　言

滿江紅由於葉內有固氮藍綠藻*Anabaena azollae*共生，具有高固氮能力，其植體生長非常迅速，能與水稻共作，爲水田優良的綠肥，不佔空間很適合本省休閒期甚短之水稻栽培制度。固氮藍綠藻適合本省氣候的生長[12]，固氮藍綠藻同時具有光合作用和固氮作用的能力。本省能源蘊藏並不豐盛，又要消耗大量能源來製造化學氮肥，以供應農業生產上的需要，故如何減少化學氮肥的使用量，是值得探討研究的工作，而以滿江紅、固氮藍綠藻來減少水田化學氮肥使用量，在可見的未來甚具有前瞻性經濟價值。

滿 江 紅

一、滿江紅的分類地位、形態、習性

滿江紅爲水生蕨類植物，滿江紅科、滿江紅屬。屬內有六種，即1. *Azolla caroliniana*分佈於北美洲及歐洲，2. *A. filiculoides*分佈於美洲及歐洲，3. *A. mexicana*分佈於中美洲及北美洲，4. *A. microphylla*分佈於南美洲，5. *A. nilotica*分佈於非洲，6. *A. pinnata*分佈於亞洲、大洋洲及非洲[24]。本省現有滿江紅*A. pinnata*一種。

浮游於水面之多年生蕨類植物，水田、池塘、水溝及沼澤均可見。主要生長於亞熱帶及熱帶。植物體之大小依各品系之不同而異。植株之形狀亦依各不同種而異，例如*A. pinnata*呈三角形，*A. filiculoides*、*A. mexicana*及*A. microphylla*呈多邊形。莖著生根與葉，葉互生而排列成列，各葉分裂爲上下兩片，上側裂片浮於水面，有同化組織及氣孔，內側充滿許多黏液小穴，穴內有一種固氮念珠狀藍綠藻*Anabaena azollae*共生[32]。主要行無性繁殖。在秋冬低溫時，不耐寒之品系，植物體由綠轉紅，故名滿江紅，轉紅之原因主要是植物體產生紅色花色素(Red anthocyanin pigment)之故。6種不同種之滿江紅中，除了*A. nilotica*之外，其餘5種均會產生紅色花色素。當天氣寒冷或炎熱時會產生雌雄孢子，進行有性生殖。

二、環境因子對滿江紅生理的影響

滿江紅在有氮源及無氮源之培養液內都能生長，有氮源Tollens培養液比無氮源Tollens培養液較佳，20天後不但鮮重增加了二十多倍，體內含氮量也比原來要高。2ppm以上EDTA-Fe即可使滿江紅生長良好，5ppm EDTA-Fe最適合滿江紅。而不加EDTA-Fe時滿江紅鮮重仍能增加，不過增加的鮮重及固氮力都較差，而且培養後滿江紅株體變黃，含氮量降低甚多(表一)。

表一、不同濃度鐵(EDTA-Fe)對滿江紅生長之影響[5]

鐵濃度(ppm)	栽培之後的天數				培養後氮濃度[3]
	0 天		4 天		
	鮮重[1]	固氮活性[2]	鮮重	固氮活性	
0	0.3	95.2	0.66	73.2	3.8
2	0.3	100.1	0.83	124.6	4.6
5	0.3	92.3	0.83	131.6	4.9
10	0.3	84.4	0.78	123.8	—[4]
20	0.3	85.7	0.77	113.5	—

1. 鮮重，公克。
2. n mole C_2H_4/0.1g fw/hr.
3. 乾基。
4. 沒有資料。

本地種滿江紅其生長與增殖速度非常快，在接種後2星期內鮮重往往可增加爲原來的15～20倍。而在長滿水面後能繼續以疊層(multiple layers)的方式增殖。在溫室估計其疊層數在45天後爲4層左右，但田間估計在5-6層之間。

一般滿江紅對照光度很敏感，*A. pinnata*之固氮力在14klux至27klux間並無區別，而白天日照達80-90klux時*A. pinnata*固氮力明顯降低[14]。在黑暗情形下*A. pinnata*固氮力在一小時後即接近於0。Peters研究*A. caroliniana*時發現其固氮力在4840lux時即可呈飽和情形，顯然與*A. pinnata*有很大的不同[27,28]。本研究室試驗用之*A. pinnata*在9000 Lux照光度時固氮力頗佳，12000 Lux以上呈飽和情況(表二)。溫度方面據Watanabe[37]研究*A. pinnata*時發現在26℃/18℃，與31/24℃水溫時其生長情形都相差不遠，但在35/27℃時生長降低了50%左右。不過越南農民所用之*A. pinnata*在溫度超過22-24℃即會死亡[14]，兩者耐熱能力差異甚大。滿江紅對低溫適應性亦差，*A. filiculoides*在20℃以下則生長不好，*A. pinnata*在印度無法以株體越冬[14]。

表二、照光度對滿江紅(*Azolla pinnata*)之影響[5]

照光度	栽培後天數				
	0 天			3 天	
(Lux)	鮮重[a]	固氮活性[b]		鮮重[a]	固氮活性[b]
0	0.30	90.4[c]	14.7[d]	0.24	0.0
1000	0.30	92.1	53.4	0.45	63.8
3000	0.30	87.5	80.0	0.52	98.2
6000	0.30	97.0	94.7	0.61	98.0
9000	0.30	97.0	98.4	0.66	116.8
12000	0.30	90.0	—	0.70	126.2
15000	0.30	102.3	—	0.71	128.6

a.鮮重，克。

b.n mole C_2H_4/0.1g fw/hr。

c.照光處理前。

d.照光處理後。

表三、溫度對滿江紅(*Azolla pinnata*)生長之影響[5]

照度 (℃)	開始時滿江紅鮮重 (克)	滿江紅生長3天後鮮重 (克)
15	0.30	0.40
20	0.30	0.58
25	0.30	0.84
30	0.30	0.70
35	0.30	0.50
40	0.30	—[a]

a.滿江紅死亡。

IRRI於1987年[20]研究報告指出*A. pinnata*在日夜溫度37/29℃高溫下生長速度及單位面積固氮量都要比*A. filiculoides*及*A. mexicana*好得多。但在29/21℃下*A. filiculoides*生長情形比*A. pinnata*略好。不過就田間養殖而言，*A. pinnata*在之生長情形似乎較*A. filiculoides*爲優。

不耐熱帶、亞熱帶地區夏季高溫及不耐亞熱帶、溫帶地區冬天低溫，是一般使用滿江紅之主要限制因子[25,26,29,37]。本地種*A. pinnata*(Da Li, Taiwan)對夏季高溫之反應相當良好，在水溫25-40℃下21天內鮮重可增加25倍 以上，除非夏季特別炎熱(水溫超過42℃)，易生蟲害及熱害，否則本省二期作使用本地種滿江紅可不必顧慮高溫問題。本省雖然地處亞熱帶，冬天寒流來襲時氣溫降到8℃左右，不耐寒之品系如*A. pinnata*(Fuchow,China)、*A. mexicana*(California, U. S. Aa.)及*A. mexicana*(Guiana)等品系於冬季生長停頓，全部變紅，含氮量極低，不適合於一期作前養殖滿江紅當作基肥使用，而本地種*A. pinnata*(Da Li, Taiwan)及*A. microphylla*(Paraguay)很耐寒，元月份氣溫最低時仍然長得很濃綠，且繁殖迅速疊層水面，冬天又無蟲害問題，因此本省一期作使用本地種滿江紅亦不必顧慮低溫問題[2]。不過既然滿江紅各品種及品系間對溫度適應有差異，也許尋找或培育出耐高溫及耐低溫品系分別供應一、二期作之需要將是比較實際之方法[3]。在pH值適應方面，本研究室試驗所用之*A. pinnata*適應範圍在4.5-8.5之間，而以5.5最佳，與Watanabe之結果[37]相似。

一般生物性固氮材料並不適合與化學氮肥一起施用[15,22]，而有關滿江紅的研究中亦曾報導化學氮肥會使滿江紅生長情形變差[14]。目前本省常用的化學氮肥太多[1]，不利於滿江紅生長。硫酸銨對滿江紅之影響要比其他化學氮肥來得輕，而且若在N 18kg/ha用量以下，配合P_2O_5 20kg/ha至40 kg/ha之過磷酸鈣使用，則不但不影響滿江紅之固氮力，甚至對滿江紅鮮重之增加還能有所幫助(表四)。因此滿江紅與水稻之共作系統中，若須施用化學氮肥時，可以每次以18kg/ha之硫酸銨配合P_2O_5 20kg/ha至40Kg/ha之過磷酸鈣一起施用，來保持滿江紅生物固氮功能。另外，供試5種含不同陰離子銨鹽中除硝酸銨及氯化銨外，其他三種對滿江紅都有致死情形(表五)，因此化學氮肥對滿江紅致死作用可能與其陰離子有很大的關係。不同性狀土壤不但影響滿江紅之生長，而且也影響滿江紅對磷肥之反應。滿江紅在酸性土壤中生長情形要比鹼性土壤佳[33,36]。本研究室所用之滿江紅*Azolla pinnata*最適範圍在5.5左右，其對不同性狀土壤之反

表四、硫酸銨及過磷酸鈣用量對滿江紅鮮重產量之影響(6)
(滿江紅接種量: 0.5公克，生長期: 21天)

氮施用量 (Kg/ha)	P₂O₅施用量(Kg/ha) 80		40		20		0	
	S[a]	I[b]	S	I	S	I	S	I
54	3.1[c]	4.0	7.1	6.9	4.2	4.2	4.2	4.2
36	4.9	5.5	9.2	8.5	7.4	6.7	5.7	7.1
18	6.6	5.5	9.3	8.7	8.2	7.7	5.1	7.0
0	5.0	5.0	7.6	8.2	9.5	8.6	4.9	對照

a: 肥料施於土壤表面。
b: 肥料混入土壤裡面。
c: 滿江紅濕重，公克。

表五、銨鹽之不同陰離子對滿江紅生長之影響(6)

銨鹽種類 (含N 45Kg/ha)		鮮重產量(公克)[+] 0 天	5 天	12 天
硝酸銨	NH_4NO_3	4	13.7	33.2
氯化銨	NH_4Cl	4	11.3	33.3
醋酸銨	CH_3COONH_4	4	5.0	9.8
碳酸銨	$(NH_3)_2CO_3$	4	—[++]	—
檸檬酸銨	$(NH_4)_2C_6H_{12}O_6$	4	—	—

\+ 每盆面積35x28公分。
++ 滿江紅不能生長。

應偏好酸性土壤(5)。在加施磷肥後，發現滿江紅在酸性粘板岩沖積土中對磷肥反應最佳，而在鹹性粘岩沖積土中對磷肥反應最差，甚至有類似毒害的情形發生(5)。

由試驗結果及工作經驗知道，水深亦影響滿江紅生長甚鉅。在酸性粘岩沖積土之情況下，3公分以上的土水方使滿江紅反應出最好的磷肥效用(表六)。而以田間實際養殖之情形而言，若水深不足以使滿江紅飄浮，則滿江紅之生長速率甚慢，無法在同一期間內達到一般飄浮情形時之滿江紅鮮重量，因而會嚴重影響田間的養殖。

表六、不同水深對滿江紅生長之影響[6]

水深	鮮重產量 (公克)			N %*
(公分)	0天	7天	14天	14天
1	4	19.2	41	3.05
3	4	30.1	56	4.07
6	4	31.4	58	3.34

* 乾基百分率。

田間養殖滿江紅最重要的肥料是磷肥，其適當用量在P_2O_5 7.5kg/ha至15kg/ha間[18,19,33]。本研究室試驗用之滿江紅*A. pinnata*在P_2O_5 15kg/ha下有相當好的產量。氮肥配合磷肥使用稍可提高滿江紅產量，但提高的產量有限，似不經濟，而且氮肥經常使用時會促進其他雜草生長，而不利於滿江紅，因此就滿江紅養殖而言，可不必添加氮肥[6]。

三、滿江紅固氮之肥效及抑制稻田雜草

肥效試驗結果，滿江紅共作者與不施氮肥區比較，事實上並無顯著差異，但滿江紅拌入土中當基肥然後配合滿江紅共作，則肥效與N 60kg/ha相同或接近N 100kg/ha(表七)。因此顯然可看出滿江紅之肥效主要是來自拌入土中滿江紅鮮體，這亦在其他的研究中被證實過[37]。滿江紅覆蓋水面或土面對減少化學氮肥之逸失應有相當的助益，此由滿紅紅共作配合化學氮肥N 60kg/ha的肥效與N 100kg/ha者相似，可以得到旁證。滿江紅*A. pinnata*當基肥使用(含N 47kg/ha)，其肥效比施化學氮肥N 60kg/ha之處理者較優(表八)，可能因爲施用化學氮肥容易流失或易被脫氮細菌進行脫氮作用而逸失，而滿江紅當基肥之肥效是緩慢性的，以及滿江紅還含有其他有機物質及有益水稻之營養分如磷素等[2]。

插秧後即接種滿江紅，由於滿江紅生長迅速疊覆水面，對大部份水田雜草都有抑制的作用，其防治雜草之效果與施用「馬上除」殺草劑相似[2,23]。Moore、Rains及Talley也報導滿江紅能抑制水田雜草之生長[25,29,35]。在滿江紅共作之各試驗區於試驗期間內，除鴨舌草與雙雀稗草偶有發現外，其他水田雜草甚少發生(表九)。在共作期間由於水稻植被能迅速覆蓋空間，自有防草功能，因此不必再有任何防草工作。故利用滿江紅做爲水田雜草之生物防治，在今後水田作物栽培上將有很實用的價值。又滿江紅蛋白質含量高達35%[29]，經本實驗室以氨基酸分析儀測定後，發現含有多種不同的氨基酸成分，雞、鴨及豬嗜食之。將來可利用水田養殖滿江紅作爲飼料，或滿江紅與水稻共作長滿水面時，既可以抑制雜草之生長，又可當飼料讓鴨群到稻田裡喂食之[24]。

表七、本地耐熱又耐寒品種*A. Pinnata*對水稻之肥效試驗[2]

處　理	稻 穀 產 量（公斤/公頃）	
	70年二期作	71年一期作
施氮肥100公斤/公頃	5121	5350
施氮肥60公斤/公頃 +滿江紅共作	5090	4650
滿江紅當基肥 +滿江紅共作	5040	4916
施氮肥30公斤/公頃 +滿江紅共作	4292	4016
滿江紅共作	4064	3916
無氮區	3718	3900

鄧肯氏新多重變域分析5%顯著水準。

表八、耐寒品種滿江紅大面積肥效試驗對水稻穀產量之影響[2]

處　理	穀 產 量(公斤/公頃)	指　數
化學氮肥全量區 (N 120 Kg/ha)	6438	100
化學氮肥半量區 (N60Kg/ha)	5464	85
掩施*A. pinnata* (Da Li, Taiwan)	6044	94
掩施*A. microphylla* (Paraguay)	5396	84

表九、滿江紅與水稻共作對稻田雜草抑制之效果(水稻一期作)[2]

處　理	雜草相及雜草數(株)/0.5m² (三重複之平均)					穀產量 公斤/公頃
	鴨舌草	螢藺	紅骨草	稗草	球花簕草	
不接滿江紅，不施殺草劑	723	114	33	17	8	4998
接種滿江紅100 g/m²，不施殺草劑	55	48	6	0	0	6603
接種滿江紅200 g/m²，不施殺草劑	41	18	14	3	0	5921
接種滿江紅300 g/m²，不施殺草劑	21	9	2	0	0	6272
不接滿江紅，施用殺草劑「馬上除」30Kg/ha	53	11	0	0	0	6736

滿江紅為本地種*A. pinnata* (Da Li,Taiwan)
雜草相及雜草數於插秧接種滿江紅一個月後調查。

固氮藍綠藻

一、固氮藍綠藻分類及構造

固氮藍綠藻有*Anabaena*、*Anabaenopsis*、*Aulosira*、*Chlorogloea*、*Cylindrospermum*、*Nostoc*、*Calothrix*、*Scytonema*、*Tolypothrix*、*Fischerella*、*Hapalosiphon*、*Mastigocladus*、*Stigonema*、*Westelliopsis*個品種。在構造上，它是可以單細胞、成聚落及絲狀存在但是只有絲狀藍綠藻具有固定空氣中氮的能力。在細胞質之色質體內分佈有c-Phycocyanin (藍色素)、c-Phycoerythrin(紅色素)、β-Carotene、Xanthophylls等色素，這些色素的組合則形成特有的固氮藍綠藻顏色[38]。

由一般增殖生長細胞(Vegetative cell)可以發育成具有厚壁且失去細胞內容物的異型細胞囊(Heterocysts)，異型細胞囊就是固氮藍綠藻固定氮素的地方。固氮藍綠藻可以和眞菌聯合共生(Association with fungi)形成地衣，及和苔蘚植物、蕨類、裸子植物、被子植物聯合共生[38]。

本省分離純化得到的固氮藍綠藻大多屬於*Anabaena*及*Nostoc* 2種[12,34]。

二、環境因子對本省*Notoc* spp.(HN 501)固氮藍綠藻的影響

固氮藍綠藻於不同溫度下培養10天後，由試驗結果知道生長於15℃至20℃時比較不合適，於30℃至35℃最有利藻的繁衍，此株藻對溫度的適應性，以夏季型高溫氣候較能適應，而以春冬溫度較低氣候不合適藻的生長[8,12,13]。培養液之酸鹼度低於pH7時此株藻生長受到抑制，此時

藻株顏色由原來之綠色變成黃綠色、黃色，pH低於3以下之酸性培養液，此株藻完全不能生存，培養液之pH介於8至9之間最合適此藻生長。臺灣一般水田土壤水溶液pH低於7以下，不適合此株藻的生長[13]，只有加入適當量之碳酸鈣或其他石灰性物質於水田中以提高pH值，才能提供HN 501藻株較適合的生存環境，使藻族群能茂盛的生長。

固氮藍綠藻接種於培養基後，放置在1000、3000、5000、7000、9000Lux照光度下進行培養試驗，得知1000Lux至5000Lux低照光度時生長緩慢，當照光度超過5500Lux，則藻的生長勢顯著地增加，而於7000Lux至9000Lux時達到最高點。由溫度、pH、照光度之試驗結果，可以知道此株固氮藍綠藻生長最適環境條件是溫度30℃至35℃、pH介於8至9之間、照光度7000Lux至9000Lux[13]。

此株藻對於硝酸態氮較喜歡，銨態氮則有抑制生長的情形。5mM硝酸態氮時可得到較高藻產量，當銨態氮濃度爲10 mM則此藻便完全沒有生存的機會了(表十)。雖然此株藻可由空氣中固定氮素來維持生命狀態，但藻族群生長不旺盛，故添加外來之化學氮源於培養液中，可有效地促進藻族群的繁衍[16,21]。

表十、氮源及其濃度對HN 501固氮藍綠藻產量的影響(mg/pot)[13]

濃度	硝酸態氮	銨態氮	L.S.D. 5%	L.S.D. 1%
0.5mM	183	61	6	13
1 mM	203	60	17	40
5 mM	227	32	38	87
10 mM	225	0	33	76

HN 501固氮藍綠藻缺乏鐵、鈷、鉬、錳、硼、銅、鋅中任何一種元素，則完全不能繁殖，但培養液用自來水或地下水配製時，在沒有加入微量元素的情況下仍然可以使此株藻正常的生長，故由此可知本省大部份灌溉水及土壤中之微量元素含量，足以供給此株藻生長發育，藻生長於水田中而缺乏微量元素的可能性是很小。

固氮藍綠藻0.9cm^{2}接種於250ml三角瓶內，水平面面積爲30.9cm^2，經過84小時後，藻便可長滿整個水平面。故可估計此株藻在環境條件良好情況下,每隔16.5小時便可以增長1倍。HN 501固氮藍綠藻生長4天後，整瓶藻的固氮活性爲4070 n mole, N_2 fixed/flask.hr, 此時藻剛長滿三角瓶水平面，藻取樣於顯微鏡下觀察，幾乎沒有異型細胞囊出現,水溶液中氮濃度由原來之2.5 mM減少變爲2.1 mM(表十一)。藻生長至第6天時整瓶固氮藍綠藻固氮活性增至8100 n mole N_2 fixed/flask.hr, 水溶液氮濃度爲1.3 mM, 異型細胞囊出現百分率爲7.9%，至第8天時瓶內藻之固氮活性最高可達9200 n mole N_2 fixed/flask.hr，於第11天時固氮活性迅速減少只有5364 n mole N_2

fixed/flask.hr。此藻生長特性是當藻長滿水面時，藻的增長便停止，然後經過5天後藻便迅速老化，開始有部份藻下沉於盆底的現象。故可確知此藻於增殖生長期的時候由外界水溶液中吸取氮素量比所釋放出之有機態氮[38]量多，此時異型細胞囊少，固氮活性小，待增殖生長期完成後，異型細胞囊出現較多時，固氮活性可以激增，當藻老化分解後才可能釋出氮素供給作物利用。

表十一、培養液中氮濃度變化[13]

天　數	氮濃度 (Mole/L)
原　液	2.5
4　天	2.1
6　天	1.3

三、固氮藍綠藻對水稻產量之影響

氮肥對於植物的生長是有利的，故當土壤沒有外來的氮源施入的話，往往於栽培作物時，發覺主作物生長不良，產量降低的情形。由表十二的資料得知水田土壤接種固氮藍綠藻時稻穀產量皆比沒有施氮肥對照處理者好，表示固氮藍綠藻固定空氣中氮素，對於水稻稻穀產量皆有正面好的影響。雖然9種固氮藍綠藻，用乙炔還原法測定固氮能力時，其相互間並無顯著差異[11]，但當分別接種於水田土時，對於水稻稻穀產量卻有不同程度的影響，而以HN 801藻種最好，幾乎可以有施用半量氮肥的效果，稻穀產量指數可達到不施氮肥且不接種固氮藍綠藻處理之145%。其他8種固氮藍綠藻對稻穀產量有利影響之秩序如下：HN 601、HN 701、HN 501、HA 601、HA 301、HA 701、HN 206、HN 101(表十二)。其所以有上述差異之情形，可能之原因諸如：1. 水田土壤生物環境與實驗室不同，水田土壤生物相存在著多種可以攻擊藍綠藻族群之藍綠藻噬菌體、黏液細菌、寄生性眞菌、原生動物和水生昆蟲，會抑制固氮藍綠藻族群[12,17]，而9種藻株對於水田生物相之生物性攻擊，其抵抗的能力有大小之分。2. 固氮藍綠藻對於環境因子如光照強度、日照長度、溫度、pH、氧化還原狀態之適應能力不同[7,8,9,10,11,12,16,31]，故因而導致固氮藍綠藻族群、固氮能力也就大小不一，如此促使其對水稻稻穀產量的影響力不同，HN 101、HN 206、HA 701此三種固氮藍綠藻於水田土中可能受此二因子影響很大，故水稻稻穀產量幾乎等於對照處理者。

儘管固氮藍綠藻對於水稻株高、穗數、稻穀產量皆有好的影響[4]，但是對於整個水稻生長期而言，由固氮藍綠藻供給之氮肥是有限的，必須於栽培管理時，加入適量及適時的外來氮源。因固氮藍綠藻於中性、微鹼性環境(pH7.5～10)下較易生長[13]，固氮能力較強，而於酸性環境中

表十二、氮肥用量及固氮藍綠藻++對稻穀產量之影響[4]

處　理	穀重(克／盆)+	指數(%)
全量氮肥	11.9	216
半量氮肥	18.6	156
無	5.5	100
HN 101	5.7	103
HN 206	6.0	109
HN 501	6.8	124
HN 601	7.1	129
HN 701	7.0	127
HN 801	8.0	145
HA 301	6.4	116
HA 601	6.4	116
HA 701	6.0	109

+ 每盆風乾土壤3公斤。++ 固氮藍綠藻由中央研究院黃檀溪博士提供試驗。
全量氮肥用量: 硫酸銨1.2公克/盆。
半量氮肥用量: 硫酸銨0.6公克/盆。

固氮藍綠藻族群生長受抑制，若將固氮藍綠藻接種於中性或鹼性土壤時，對水稻全期生長的有利影響可能會增大。一般而言，固氮藍綠藻在照光度為1000～2000 Lux時就開始生長而在超過10000 Lux時固氮藍綠藻生長便受限制，屬於低照光度類植物[12,30]，又因水稻田耕犁灌水後矽藻及綠藻首先建立起族群，隨後固氮藍綠藻才出現[30]，故欲接種固氮藍綠藻於水田時，則時間應往後延，待矽藻及綠藻形成之後再接種，利用其陰影來減少日照強度，以使固氮藍綠藻有較好的生長環境。

銨濃度於超過0.05%時即無法生長[7,11]。故水田土壤，若於氮肥施用時皆連用硫酸銨，則固氮藍綠藻會在含有大量硫酸銨的環境下受到抑制。所以將固氮藍綠藻接種於中性、微鹼性水田中，接種時間為水稻田耕犁、浸水一段時期間後，配合施用少量尿素氮肥，其對水稻生長、產量有利的影響或許可以顯著的提高，關於此方面的試驗有待進一步的探討與研究。

參考文獻

1. 林家棻、張愛華、曾肇清 1973 臺灣主要土壤含氮狀況與其供應情形。農業研究 22:186-203。
2. 林錫錦 1983 水田滿江紅固氮之肥效及抑制稻田雜草之研究。中華農業研究 32(4):348-359。

3. 林錫錦 1981-1983 本省耐寒及耐熱滿江紅品系之篩選。(Personal communication)

4. 林錫錦、簡宣裕 1983 固氮藍綠藻對水稻生長之影響。七十二年度農林廳各試驗場所試驗研究報告第314-324頁。

5. 李啓彰、林錫錦、林家棻 1981 水田滿江紅*Azolla pinnata*之研究I，環境因子對滿江紅生長之影響。中華農業研究 30:405-411。

6. 李啓彰、林錫錦、林家棻 1982 水田滿江紅*Azolla pinnata*之研究II，土壤與肥料因子對滿江紅生長之影響。中華農業研究 31(3):225-234。

7. 莊允當 1983 藍綠藻培養之條件及初步應用於土壤試驗。台灣糖業研究所研究彙報 99:47-54。

8. 黃啓穎、張晉華、王傳釗 1982 台灣蔗田之固氮藍綠藻。台灣糖業研究所研究彙報 97:49-55。

9. 黃啓穎 1977 藍綠藻之固氮作用。科學農業 25(9-10):280-286。

10. 黃啓穎 1980 藉藍綠藻固氮取代化學含氮肥料施用可能遭受難題。科學農業 28(7-8):284-285。

11. 黃檀溪、吳海揚 1981 影響藍綠藻族群消長之生物因子。科學發展月刊 9(1):51-59。

12. 黃檀溪 1982 水田固氮藍綠藻之生態探討。科學發展月刊 10(7):619-631。

13. 簡宣裕、林錫錦 1987 環境因子對HN 501 藍綠藻生長的影響。中華農業研究 36(1):67-93。

14. Becking, J. H. 1979. Environmental requirements of Azolla for use in trorpical rice production. In:Nitrogen and Rice 345-375. IRRI.

15. Edwards, D. G. 1975. Nutritional factors limiting nitrogen fixed by Rhizobia. In Biological Nitrogen Fixation in Farm Systems of the Tropics. Edited by Ayanaba, A. and Dart, P. J. pp.189-204.

16. Hung, T. C. and Wu, H. Y. 1982. Predation of Amoebae on the filamentous Blue-Green Algae. Bot. Bull. Academia Sinica 23:63-70.

17. Hung, T. C. Establishment of nitrogen-fixing blue-green algae in the rice field. Proceedings of ROC-Japan seminar on promoting nitrogen fixation in agriculture. pp.67-73.

18. IRRI. 1976. Annual report for 1976. pp.232-233.

19. IRRI. 1977. Annual report for 1977. pp.287-288.

20. IRRI. 1978. Annual report for 1978. pp.245-246.

21. John, C. M., John, C. S. and Enderling, C. S. 1983. Regulation of expression of nitrate and dinitrogen assimilation by *Anabaena* species. Applied and environmental microbiology 45(4):1351-1359.

22. Kafer, N. 1975. Non-symbiotic nitrogen fixation in tropical humid soils, with particular reference to Nigeria. In:Biologica a Nitrogen Fixation in Farm Systems of the Tropics. Edited by Ayanaba, A. and Dart, P. J. pp.267-272.

23. Lee, C. C. and Lin, C. J. 1981. The possibility of using azolla as a source of nitrogen for rice in Taiwan. Soil and Fertilizers in Taiwan 1980-1981:35-43.

24. Lumpkin, T. A. and Plucknett, D. L. 1980. Azolla:botany, physiology and use as a green manure. Economic Botany 34:111-153.

25. Moore, A. W. 1969. Azolla: biology and agronomic significance. The Bot. Rev. 35:17-34.

26. Newsweek. July 18, 1983, pp.26-35.

27. Peters, G. A. 1977. The Azolla-*Anabaena azollae* Symbiosis In: Genetic Engineering for N_2-fixation. pp.231-258. Edited by Alexander, I. J. and Hollaender, D. A. Plenum press, New York and London.

28. Peterss, G. A., Evans, W. R., and Toia, Jr. R. E. 1976. Azolla-*Anabaena azollae* relationship. Plant Physiology 58:119-126.

29. Rains, D. W. and Talley, S. N. 1979. Use of azolla in north American In: Nitrogen and Rice. pp.417-431. IRRI.

30. Rogen, P. A. and Reynaud, P. A. 1979. In:Nitrogen and Rice. pp. 287-310.

31. Roger, P. A. and Kulasooriya, S. A. 1980. Blue green algae and rice. The international rice research institute. LosBoas, Philippines.

32. Shen, Y. F. 1960. *Anabaena azollae* and its host *Azolla pinnata*. Taiwania 7:1-7.

33. Singh, P. K. 1979. Use of azolla in rice production in India. In : Nitrogen and Rice. pp.407-418. IRRI.

34. Stainer, R. Y., Kunisawa, R., Mandel,M., and Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicelluar bluue-green algae. American Soic. of Microbiology 35:171-205.

35. Talley, S. N. and Tolley, B. J. 1979. Nitrogen-fixation by azolla in rice fields. In: Genetic Engineering for N_2-fixation. pp.259-281. Edited by Alexander, I. J., Hollaender, D. A. et al. Plenum press, New York.

36. Tuan, D. T. and Thuyet, T. Q. 1979. Use of azolla in rice production in Vietman. In: Nitrogen and Rice. pp.395-405. IRRI.

37. Watanabae, I., Espinas, C. R., Berja, N. S. and Alimagno, B. V. 1977. Utilization of the Azolla-*Anabaena* complex as a nitrogen fertilizer for rice. IRRI. Res. Pap. Sev. 11. pp.15.

38. William, D. and Stewart, D. 1966. Nitrogen fixation in plants. Lecture in Botany at Westfield College, University of London. pp.58-70.

討　論

台中區農改場黃秀華問:

爲何目前滿江紅和藍綠藻之固氮功用沒有在推廣?

省農試所助理研究員簡宣裕答:

第一、滿江紅不是固氮是藍綠藻在固氮,這個觀念要搞清楚。第二、這牽涉到整體效益和一般耕作方式的問題,一般來講現在比較講求省工,不願意再花時間在水田中培養這個東西,要在兩期作中培養出藻類。花這些功夫下去跟施用化學氮肥算一算是否合算。一般來講在勞力密集的國家也可以推行,在另一方面在耕作制度下如果說農藥施用太多的話,會抑制它的生長。在台灣目前這種耕作制度、經濟情況下,要農民來接受這個,推行上還有一段距離,或許在以後氮肥缺少,或爲了保育環境這觀點來推行的話是可形的。目前來說整個經濟效益,整體收入還是不合算的。

糖研所李松伍問:

固氮藍綠藻在旱田有無作用?

省農試所助理研究員簡宣裕答:

在美國及貴所有做過類似固氮藍綠藻旱田這方面的研究,發覺有相當的功能。一般來講,在它的品系與品種方面應該是*Nostoc*和*Anabaena*最主要的。功能的話,在甘蔗根部其中選擇一些固氮的活性。

中興大學土壤研究所王銀波所長問:

微量元素對滿江紅固氮有影響,一般了解Fe、Mo、Cu對固氮有影響,其它還有那些微量元素有影響?

省農試所助理研究員簡宣裕答:

錳和鋅。

Studies of *Azolla* and Nitrogen-fixing Cyanobacteria

S. Y. Chien, C. J. Lin, and C. C. Lee

Soil Microbiology Lab, Department of Agricultural Chemistry, Taiwan Agricultural Research Institute, Wu-feng, Taichung, Taiwan, R.O.C.

Abstract

Azolla is an aquatic fern, belonging to Azollaceae and there are six species, namely *Azolla carolinana, A. filiculoides, A. mexicana, A. microphylla, A. nilotica, and A. pinnata*. *Azolla pinnata* is the only species native to Taiwan. Under the leaflets of *Azolla*, there are many cavities filled with viscous liquid and inside of which *Anabaena azollae*, a symbiotic, nitrogen-fixing cyanobacteria inhabits.

Due to the presence of *Anabaena azollae*, *Azolla* can be grown in nitrogen-free selective medium. However, phosphorus and iron are necessary elements in the grwoth of *Azolla*. The suitable conditions for *Azolla* growth include 12000 Lux of illumination intensity, pH 4.5-7.0 and temperature 15-30℃.

Azolla can be applied to paddy rice field for growth and then, incorporated in the soil as green manure. The growth of *Azolla* can inhibit weeds growing among rice seedlings, therefore it can be used as herbicide.

Nostoc and *Anabaena* are the most important groups of nitrogen-fixing cyanobacteria in Taiwan. In morphology, they are unicellular, colonial or filamentous. However, only filamentous clusters of cyanobacteria show nitrogen-fixing ability. The most suitable growth conditions for *Nostoc* are suggested as following: (1) temperature between 30 and 35℃, (2) pH >7, (3) illumination intensity 7000-9000 Lux. Nitrate is more favorable than ammonium, since ammonium could be toxic to cyanobacteria, if concentration is more than 5 mM. The *Nostoc* spp. could not grow independently without microelements such as iron, cobalt, molybdenum, manganese, boron, copper,and zinc.

At the early growth stage, *Nostoc* consumed large amount of nitrogen for cellular growth. When the nitrogen level in the culture medium falls, numerous amount of heterocysts could be induced to form. Because heterocysts have the capacity to fix nitrogen from the atmosphere, *Nostoc* could release more nitrogen into the medium. In the pot cultures with rice, *Nostoc* had the same nitrogen efficiency as 0.2 gm $(NH_4)_2SO_4$/Kg soil.

溶磷菌的作用及應用研究

楊秋忠[1] 張淳堂[2] 張鳳屏[3]

[1] 中興大學
[2] 興農公司
[3] 茶業改良場

摘　要

磷素是一般農業生產上植物所必需的大量營養素之一。土壤中磷素存在的形式，包括無機態及有機態。磷肥施入土壤後，磷素將被固定形成不易溶解型，將導致不易被植物吸收。磷素在土壤中的移動較差，不易被水流失，常在農田中累集。溶磷菌的作用即在溶解此類累集的無機及有機結合的磷素。

溶磷菌的種類甚多，包括細菌、放線菌及眞菌等，其中菌根眞菌經研究也能促進根圈中溶解無機結合磷，此外，研究結果顯示溶磷細菌可溶解磷酸三鈣，生物分析結果顯示部份菌株對胚根生長有明顯增進作用。本研究室篩選之溶磷細菌種，經田間花生、扁柏、銀合歡、茶等，均有增產的功能，尤其配合菌根菌之應用，將更增加接種效應穩定的功效。溶磷菌的應用效果，已被證明在某些土壤中，可以達到增產的成果。除了溶解土壤中不易溶解的磷素外，部份篩選之溶磷菌能促進根系之伸展，有利營養之吸收，可能與植物賀爾蒙之形成有關，此有待進一步研究證明。

關鍵字: 溶磷菌、菌根菌、磷肥

前　言

磷素是肥料三要素(氮、磷、鉀)之一，是一般農業生產上，植物所必需的大量營養素。土壤中磷素存在的形式，包括無機態及有機態，無機態常與鈣、鐵、鋁結合，呈不易溶解型，導致不易被植物吸收;有機態磷則存在於許多與磷酸鍵結的有機化合物上，如磷酯、植酸鈣鎂(phytins)及核酸等等[34]。

土壤中的無機態磷以結合型式存在愈多，對植物的有效性磷就愈少，因此磷肥在每期作物生產中常需要施用，否則，產量或品質就受到影響，但磷肥的回收率甚低，約在20%以下，所餘的磷肥，可能幾乎都被土壤所固定結合。又因磷素在土壤中的移動較差，不易被水流失，田間前期作未吸收的磷肥被固定結合，植物也無法大量再吸收到這些被固定的磷，此即每一期作物需施用磷肥的原因。溶磷菌的作用即在溶解無機及有機結合的磷素。本文主要是在瞭解溶磷菌的種類及作用，並進而在瞭解台灣本土溶磷菌應用的研究。

磷在土壤中的特性

磷肥施於土壤後，由磷在土壤中的動態[41]圖一得知，僅作物與動物移去一部分的磷，淋洗造成輕微的流失，大部分的磷在土壤循環中仍以鈣結合磷、鋁結合磷、鐵結合磷形態存在[34]。

常見土壤無機磷酸鹽中以鈣結合磷種類較多[17]。磷在土壤中的化合態受pH值影響很大，間接影響植物生長時對有效磷的供應；磷在土壤pH值6.5時對植物有效性最高[37]，在鹼性土壤與鈣結合形成難溶性鈣結合磷，在酸性土壤與鋁、鐵結合形成難溶性鋁結合磷及鐵結合磷，對植物的吸收引起阻礙[30]。

溶磷菌的種類

土壤微生物中，具有溶磷性質的微生物，包括有細菌、放線菌及眞菌等，如表一所示。常見如細菌的*Pseudomonas*、*Mycobacterium Micrococus*、*Bacillus*、與*Flavobacterium*等，眞菌如*Aspergillus*、*Penicillum*等，放線菌如*Streptomyces*等[39]。Halder等人[24]研究發現根瘤菌(*Rhizobiuleguminosarum*、*R.melioti*、*R.loti*、*Brady-rhizobium japnicum*等)分泌有機酸(2-ketogluconic acid)可自磷礦石溶出1.4%至47%之磷量;亦有報導固氮菌(*Azotobacter*及*Beijerinckia*)具有溶解(磷酸三鈣、磷酸鐵、摩洛哥磷礦粉)現象[1]，可知溶磷菌除溶磷能力外部分菌種尙具固氮功能。

溶磷作用的機制

溶磷作用產生的原因爲直接產生有機酸或間接生成無機酸造成難溶性磷酸鹽中磷酸根的釋出，或分泌酵素加速有機磷的礦質化而釋出磷酸根，但其眞正溶磷機制尙需進一步明瞭其可能之機制如下[10]:

一、對無機磷的溶解作用的機制包括下列可能方式

1. 分泌有機酸：如 lactic acid、glycolic acid、oxalic acid、citric acid及 2-ketogluconic acid等，溶解結合磷，將難溶性無機磷的磷酸根被釋出[8,13,14,15]。
2. 產生無機酸：硫化菌與硝化菌進行化學自營作用時產生硫酸與硝酸，使磷酸根被釋出。
3. 微生物的呼吸作用產生CO_2：在土壤溶液中形成碳酸，使難溶性的鈣結合磷溶出磷酸根。
4. 硫化菌在厭氣狀態下產生大量H_2S：進入土壤溶液中解離成H^+與S^{2-}，S^{2-}與磷酸鐵中的鐵結合形成難溶性之硫化亞鐵，使磷被釋出。
5. 分解有機質腐植酸(humic acid)及黃酸(fulvic acid)：此二種酸可與鈣、鋁、鐵結合形成鉗化合物，而釋出磷。

二、對有機磷的礦質化作用的機制包括下列可能方式

土壤有機磷主要來自有機物，以植酸鹽(phytin)、磷脂質(phospholipid)、核酸及核蛋白等形態存在溶磷菌對有機磷的礦質化主要是以分泌酵素方式進行作用。

1. 分泌植酸脫磷酵素(phytases)：分解植酸而釋出磷酸根。
2. 分泌核酸分解酵素(nucleases)：溶磷菌以核酸爲唯一的碳源、氮源與磷源，核酸分解酵素(nucleases)分解核酸，而釋出磷酸根。

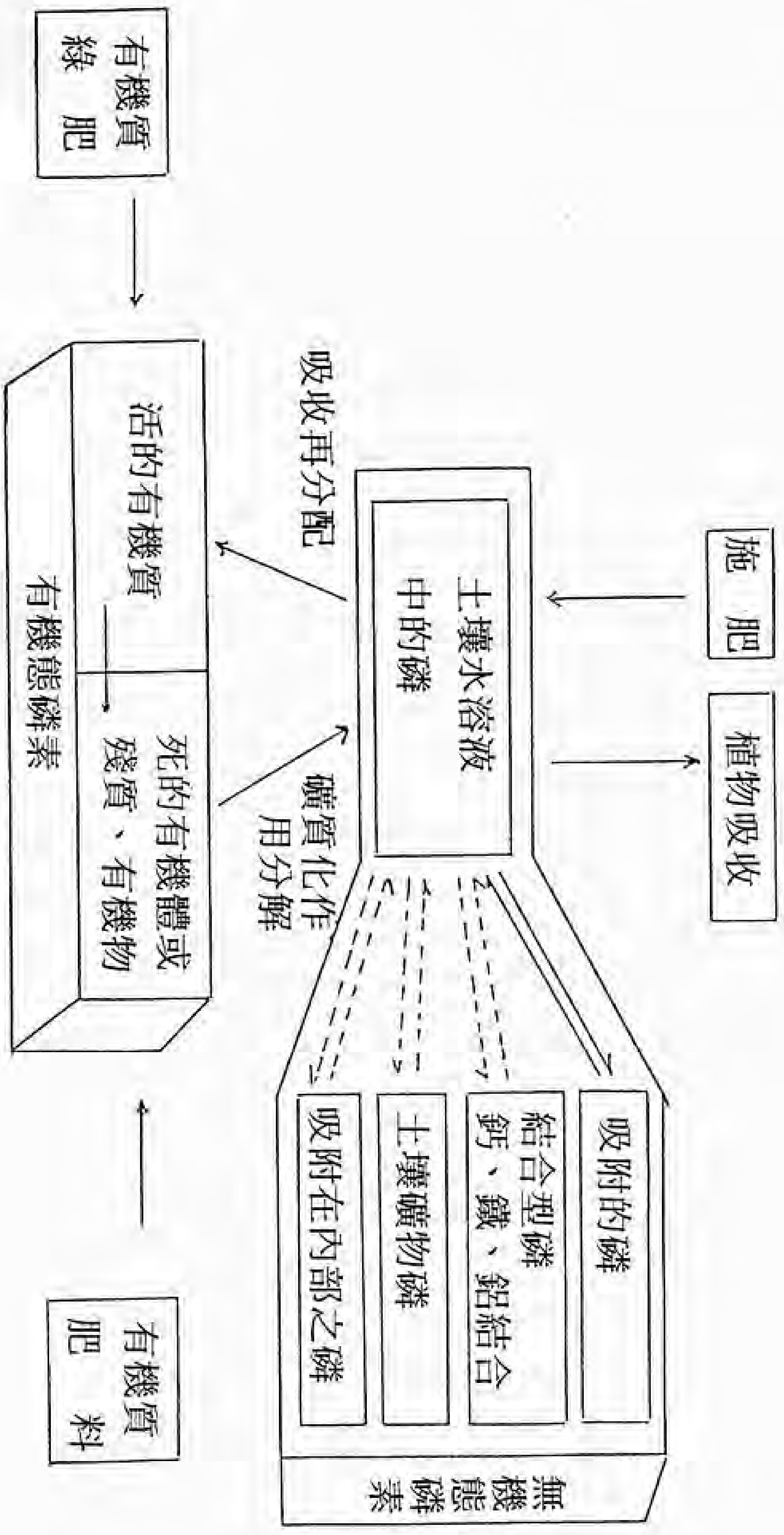


圖1　土壤中的磷素動態系統

3. 分泌磷脂酵素(phospholipases): 水解磷脂質，而釋出磷酸根[20]。

4. 分泌有機酸: 水解有機磷而釋出磷酸根

土壤環境與溶磷菌分布之關係

Sperber[38]發現在未栽植任何作物之土壤的分離菌株中僅10-17%具溶磷能力，而栽植苜蓿、裸麥、多年生裸麥以及小麥的根圈土壤之分離菌株中，分別有32%、28%、41%與26%具有溶磷能力，不但溶磷菌佔的比例增加，總菌數亦增加。Louw與Webley[29]亦發現同樣的根圈效應(rhizospheric effect)所以植物根部可以藉此增加所能吸收的有效磷源。而Gupta等人[23]亦報導草原與森林土壤之溶磷菌族群遠大於耕作土壤，可能導因於有機質含量的差異。Subba Rao[39]亦提及溫暖與潮濕地區的土壤溶磷菌族群大於乾旱地區的土壤但Yahya與Al-Azawi[40]卻認爲土壤環境因子如電導度、有效磷含量、陽離子交換能力、土壤水分、有機質和pH等與溶磷菌數量之相關性並不顯著。張及楊[2,5]在茶園土壤所作調查結果顯示，雨量少、氣溫低及根系疏鬆降低溶磷細菌族群，與土壤pH值、有機質、有效性磷、交換性鉀、鈣與鎂無明顯相關。

溶磷菌對植物之影響

溶磷菌對植物生長之影響，已有學者作過許多研究報告，僅就國內外曾報導之例子概述如下:

一、溶磷細菌對植物生長之影響

1. 在石灰質土壤(calcareous soil)接種溶磷細菌促進大麥(*Hordeum vulgare*)[27]、高粱(*Sorghum helepensis*)[35]、蠶豆(*Vicia faba*)[26]、豌豆(*Pisum sativum*)[25]與*Lolium multiflorum*[22]等作物的生長及磷的吸收。

2. 在酸性土壤種植美洲赤松(*Pinus resinosa* Ait.)苗木，接種可溶解磷酸鈣的溶磷細菌(*Pseudomonussp.*)促進苗木生長的效果較磷肥處理爲明顯[33]。

3. 水稻在酸性土壤施用磷礦石或磷酸鈣，接種具溶磷能力且能產生植物生長荷爾蒙(phytohormone)IAA的溶磷細菌(*Bacillus firmus*)，可增加穀粒中磷含量及促進生長[21]。

4. 小麥接種溶磷細菌(*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* and *Bacillus circulans*)促進小麥與紅豆cowpea的產量與磷吸收，且同時增進豆科植物(cowpea)的固氮作用[13,14,15]。小麥接種溶磷細菌(*Beijerinckia india*)，植體含磷量增加41%。花生在紅壤中接種溶磷細菌(*Beijerinckia india*)明顯減少空殼現象且增產29%[1]。

5. 本研究室在溶磷菌之作用上，曾對花生、萵苣、銀合歡、扁柏等之單一接種均有促進生長之功效。茶園連作土壤接種溶磷細菌明顯促進台茶12號扦插苗的生長[2,5]。

二、溶磷眞菌對植物生長之影響

1. 在石灰質低磷土壤施用磷礦石，接種溶磷眞菌(*Penicillium bilaji* and *Penicillium fuscum*)，增加小麥植體磷吸收達14%及16%植體乾物重[11]。

2. 接種*Penicillium* sp.及兩種*Aspergillus foetidus*，配合磷礦石施用亦增加高粱磷之吸收與乾物產量[36]。

3. 接種溶磷眞菌(*Penicillium bilaji*)並施用磷礦石(Florida rock phosphate)促進canola(*Brassica napus* L.)對磷的吸收與植體乾物重[28]。

三、溶磷細菌與囊叢枝菌根眞菌(VAMF)對植物生長之影響

4. 在低磷鹼性土壤施用磷礦石，並接種VAMF(*Glomus fasciculatus* and *Glomus mosseae*)及溶磷細菌(PSB)(*Pseudomonus* sp. and *Agrobacterium* sp.)對香浴草(lavender)可增加磷之吸收與乾物產量[12]。接種PSB與VAMF在加入磷礦石(Bayovar rock phosphate)的培養基上明顯促進alfalfa的生長[31]。

5. 掌粟(finger millet)接種VAMF(*Glomus fasciculatus*)與PSB(*Bacillus circulams*)，發現對磷的供應及乾物產量有互利效應(synergistic effect)[32]，此因溶磷細菌產生有機酸而溶解更多的磷[16]，或產生Vitamin B_{12}、riboflavin、niacin、pantothenate及biotin[18,19]提供VAMF的發育，故同時對作物有互利的效應。

6. 菌酸性土壤種植銀合歡、相思樹及楓樹，接種VAMF(*Glomus* sp.)與PSB(*Pseudomonus* sp.)有促進生長效果及互利的效應[42]。聯合接種PSB與VAMF對青心烏龍扦插苗生長具累加效果[2,5]。

四、溶磷細菌與根瘤菌(*Rhizobium*)對植物生長之影響

聯合接種根瘤菌(*Rhizobium*)與PSB(*Pseudomonus striata*或*Bacillus polymyxa*)明顯增加埃及豆(chickpea)的乾物重、果實產量、植體氮與磷的吸收[9]。

五、固氮溶磷菌對植物生長之影響

本研研究室經分離純化獲得禾本科根圈固氮菌共計2314株，進一步作溶解磷酸鈣、磷酸鐵、固氮能力等三種活性試驗，其中經挑選其中28株表現優良的菌株進一步作生物分析試驗，生物分析的結果，顯示菌株中對莖生長只有2株爲優，因此，結果顯示微生物接種劑之篩選工作甚爲重要。

六、菌根菌溶磷功效之確立:

菌根菌是屬於共生眞菌，在根圈周圍有增加根系吸收之表面積，因此，對不易在土壤中移動的磷肥，則促進吸收之量爲最明顯。菌根菌在生態調查上已有報導[4]，楊等[6]及Young[43]以大豆在四種不同土壤中証實菌根菌對根圈土壤中不易溶解性的鈣結合磷及鐵結合磷均有促進被吸收的功效。楊等[7]在玉米試驗中發現菌根菌可促進磷礦石的功效。

溶磷菌及其他微生物接種劑之應用方法

微生物接種劑的形態包括液劑及固劑二種，在應用上可依不同作物需要而接種微生物，可在種子、植株、穴植、苗床及田間使用，方法甚爲簡單方便，最重要就是要作物與菌種有接觸

(3)

一、液態生物肥料之應用方法

1. 幼苗接種的方法:

(1) 浸苗法:以5～10倍之稀釋液浸苗，浸入液體沾濕後立即取出即可。

(2) 噴苗法:當樹苗很多時，可用5～10倍之稀釋液放入噴筒中噴濕根部即可。

2. 種之方法:

(1) 播種前浸入或噴濕法:將種子與原液或5～10倍稀釋液浸入或噴濕，使種子與液態生物肥料接觸後再播種。

(2) 播種覆土前噴濕法:將原液或5～10倍稀釋液噴在苗床上未覆土的種子上，使種子沾濕後，再覆土。

3. 種植後之接種方法:

將100倍之稀釋液灌入種植之根部即可，或以10倍之稀釋液在雨後噴入土中也可。

二、固態生物肥料之應用方法:

1. 幼苗接種的方法:

將固態生物肥料先入穴中或條行中，再種植幼苗，使幼苗根部能與生物肥料接觸。

2. 種的方法:

(1) 大種子接種:

A. 包覆種子法:將種子直接加入黏著劑(如CMC)粉及少量的水後，再加入固態生物肥料包覆種子，所以種子外覆有一曾固體生物肥料。

B. 土中接觸法:將固態接種劑施入土中後，再將種子放在固態接種劑上方，再覆土即可。

(2) 小種子接種:

A. 混合方法:將小種子與固態接種劑以一定比例均勻混合後，再將混合物施入苗床上，達到種子分散，混合比例依施入量及發芽率而定，原則上施入土中後種子即在固態接種劑中。

B. 土中接觸法:如上述大種子之方法，將固態接種劑施入土中後，再將種子放在固態接種劑上方，再覆土即可。

參考文獻

1. 尹瑞齡 1991 自生固氮菌的溶磷作用。土壤6期(中國大陸)。

2. 張鳳屏 1991 茶園土壤中囊叢枝菌根菌與溶磷細菌之調查及應用。國立中興大學土壤學研究所碩士論文。

3. 楊秋忠 1993 土壤與肥料(第五版)。農世股份有限公司、台中。

4. 張鳳屏，楊秋忠 1992a 囊叢枝菌根菌在茶園土壤中之生態調查。台灣茶業研究彙報 11:63-77。

5. 張鳳屏、楊秋忠 1992b 囊叢枝菌根菌與溶磷細菌對塑膠袋茶樹扦插苗生長之影響。台灣茶業研究彙報 11:79-89。

6. 楊秋忠、莊作權、郭鴻裕 1984 接種內生菌根對大豆生長、生產、固氮作用及礦物磷利用之效應。中華農學會報 128:29-42。

7. 楊秋忠、趙震慶、張永輝 1986 台灣酸性土壤接種菌根菌及施用磷礦石粉對玉米生長之影響。中華農學會報 新 136:25-24。

8. Agnihotri， V.P. 1970. Solubilization of insoluble phosphates by some soil fungi isolated from nursery seedbeds. Can. J. Microbiol.16:877-880.

9. Alagawadi， A.R. and A.C. Gaur. 1988. Associative effect of *Rhizobium* and phosphate-solubilizing bacteria on the yield and nutrient uptake of chickpea. Plant Soil 105:241-246.

10. Alexander， M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd. ed. John Willey & Sons， New York.

11. Asea， P. E. A.， R. M. N. Kucey and J. W. B. Stewart. 1988. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. Soil Biol. Biochem. 20:459-464.

12. Azcon， R.， J. M. Barea and D. S. Hayman. 1976. Utilization of rock phosphate in alkaline soil by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria. Soil Biol. Biochem. 8:135-138.

13. Bajpai， P. D. and W. V. B. Sundara Rao. 1971a. Phosphate solubilizing Bacterial. Part I. Solubilization of phosphate in liquid culture by selected bacteria as affected by different pH values. Soil Sci. Plant Nutr. 17:41-44.

14. Bajpai， P. D. and W. V. B. Sundara Rao. 1971b. Phosphate solubilizing bacteria. Part II. Extracellular production of organic acids by selected bacteria solubilizing insoluble phosphate. Soil Sci. Plant Nutr. 17:44-45.

15. Bajpai， P. O. and W. V. B. Sundara Rao. 1971c. Phosphate solubilizing bacteria. Part III. Soil inoculation with phosphorus solubilizing bacteria. Soil Sci. Plant Nutr. 17:46-53.

16. Banik， S. and B. K. Dey. 1982. Available phosphate content of an alluvial soil as influenced by inoculation of some isolated phosphate-solubilizing microorganism. Plant Soil 69:353-364.

17. Barber， S. A. 1984. Soil Nutrient Bioavailability. John Wiley & Sons， New Yowk.

18. Barea， J. M.， E. Navarro and E. Montoga. 1976. Production of plant growth regulators by rhizosphere phosphate-solubilizing bacteria. J. Appl. Bacteriol. 40:129-134.

19. Baya， A. M.， R. S. Boethling and A. Ramos-Cormenzane. 1981. Vitamin production in relation to phosphate solubilization by soil bacteria. Soil Biol. Biochem. 13:527-531.

20. Chhonka， P. K. and J. C. Taraedar. 1984. Accumulation of phosphatases in soils. J. Indian Soc. Soil Sci. 32:266-272.

21. Datta，H.，S. Banik and R. K. Gypta. 1982. Studies of the efficient of a phytohormone producing solubilizing *Bacillus firmun* in augmenting paddy yield in acid soils of Nageland. Plant Soil 69:365-373.

22. Fernandez，M.，C. Cadahia，A. Garate and R.M. Esteban. 1985. The electro-ultrafiltration method for controlling the effect of *Bacillus cereus* on phosphorus mobilization in a calcareous soil. Biol. Fert. Soils 1:97-102.

23. Gupta，R. D.，K. R. Bherdwaj，B. C. Morwan and B. R. Tripathi. 1986. Occurrence of phosphate dissolving in soils of north-west Himalayas under varying biosequence and climosequence. J. India Soc. Soil Sci. 34:498-504.

24. Halder，A. K.，A. K. Mishra，P. Bhattacharyya and P. K. Chakrabartty. 1990. Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. J. Gen. Appl. Microbio. 36:81-92.

25. Kabesh，M. O.，M. S. Saber and M. Yousry. 1975. Effect of phosphate-dissolving bacteria and phosphatic fertilization on the P uptake by pea plants cultivated in calcareous soil. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 6:605-611.

26. Khalafallah，M. A.，M. S. M. Saber and H. K. Abd-El-Maksoud. 1982. Influence of phosphate-dissolving bacteria on the efficiency on superphosphate in a calcareous soil cultivated with *Vicia faba*. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 14:455-459.

27. Khalafallah，M. A.，M. S. M. Saber and H. K. Abd-El-Maksoud. 1983. Effect of phosphate-dissolving bacteria on P-uptake by bareley plants grown in a salt affected calcareous soil. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 14:545-550.

28. Kucey，R. M. N. and M. E. Leggett. 1989. Increased yields and phosphorus uptake by westar canola (*Brassica napus* L.) inoculated with a phosphate-solubilizing isolate of *Penicillium bilaji*. Can. J. Soil Sci. 69:425-432.

29. Louw，H. A. and D. M. Webley. 1959. A study of soil bacteria dissolving certain mineral phosphate fertilizers and related compounds. J. Appl. Bact. 22:227-233。

30. Olsen，S. R.，and F. E. Khasawneh. 1980. Use and limitations of physical-chemical criteria for assessing the status of phosphorus in soil. p.361-410. *In* F. E. Khasawneh，E. C. Sample，and E. J. Kamprath，(eds). The Role of Phosphorus in Agriculture. Amer. Society of Agron.，Madison，Wis.

31. Piccini，D. and R. Azcon，1987. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the utilization of Bayovar rock phosphate by alfalfa plants using a sand-vermiculite medium. Plant soil 101:45-50.

32. Raj，J.，D. J. Bagyaraj and A. Manjunath. 1981. Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate-dissolving bacterium on plant growth and P-uptake. Soil Biol. Biochem. 13:105-108.

33. Ralston，D. B. and R. P. McBride. 1976. Interaction of mineralphosphate-dissolving microbes with red pine seedings. PlantSoil 45:493-507.

34. Russell，E. W. 1973. Soil Condition and Plant Growth. 10th ed. Longman，London. p.555-603.

35. Saber，M. S.，A. G. El-Sherif. and A. Z. Osman. 1975. Studies on microbial fertilizers. III. Effect of phosphate and silicate dissolving bacteria on uptake of phosphorus and potassium from calcareous soil by *Sorghum helepensis*. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 6:613-619.

36. Salih，H. M.，A. I. Yahya，A. M. Abdul-Rahem and B. H. Munam. 1989. Availability of phosphorus in a calcareous soil treated with rock phosphate or superphosphate as affacted by phosphate- dissolving fungi. Plant Soil 120:181-185.

37. Sauchelli，V. 1951. Manual on Phosphates in Agriculture. Davidson Chemical Coop，Baltimore.

38. Sperber，J. I. 1958. The incidence of apatite solubilizing organisms in the rhizoshpere and soil. Austr. J. Agri. Res. 9: 778-781.

39. Subba Rao，N. S. 1982. Biofertilizers in Agriculture. Sunil Printers，New Delhi.

40. Yahya，A. I. and S. K. Al-Azawi. 1989. Occurrence of phosphate-solubilizing bacteria in some Iraqi soils. Plant Soil 117:135-141.

41. Tisdale，S. L.，W. L. Nelson and J. D. Beaton. 1985. Soil Fertility and Fertilizers. 4th ed. Macmillan Company，New York.

42. Young，C. C. 1990. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fingi on the growth of tree species in subtropical-tropical soils. Soil Science and Plant Nutrition 36:225-231.

43. Young，C. C.，T. C. Juanag and H. Y. Guo. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhiza inoculation on soybean yield and mineral phosphorus utilization in subtropical-tropical Soils. Plant and Soil 95(2):245-254.

討　論

省農試所吳繼光博士問:

爲何菌根菌有溶磷效果? 是否有分析根圈內也有溶磷菌。

中興大學土壤系楊秋忠教授答:

因爲這個實驗有兩個狀況，一個是殺菌土，一個是不殺菌土。在此我們要講的是不殺菌土就是根圈周圍，過去爲什麼沒人証明，因爲過去取的土壤是soil col. 的，所以你如果接種菌根菌以後，沒有辦法瞭解眞正土壤減少鐵磷、鈣磷、鋁磷，所以需要根圈土，我這個實驗的成功是因爲我取根圈土，最後知道這裏受到的影響，不是做平均值。如果打一個soil col.下去就沒辦法証明，另外還可藉去証明，也的確和我這個結果相同。程永雄博士的論文在中興大學的研究中也是有這個結論，謝謝。

農委會農糧處張淑賢問:

1. 你有一張顯示一個土壤加入磷下，接種菌根菌仍有促進作物生長效果，而說明菌根菌中也有可耐高磷的菌種，但是土壤可以固定磷，因此雖加入磷並不表示壤溶液的磷就很高，請解釋。
2. 你有關接種溶磷菌的效果試驗，所用的對照土壤條件不知如何?如果對照條件很差就更突顯接種的效果。

中興大學土壤系楊秋忠教授答:

1. 因爲這是一個研究生的論文我是把他出一個幻燈片而已，其實他也有一套在不同的土壤下情況下加入不同的磷，它有不同磷肥加進去的表現。
2. 事實上我這些文章都有發表，因爲發表大約二十幾篇的文章我要在很短的時間把我們過去的東西簡報完沒辦法。事實上有很多的問題在那邊，其中有一個很有趣的是說有些土壤在高磷之下接種還是有效。尤其台東的一個土壤，我們感到很奇怪是說，爲什麼高磷之下還是有效; 一般來講高磷是無效的，這等於說爲什麼土壤是一個非常複雜的情況，也是這個因素。

中興大學植病系吳文川教授問:

所用的溶磷菌學名是什麼? 站在細菌學理論而言須鑑定其種名。

中興大學土壤系楊秋忠教授答:

溶磷菌我們鑑定的有三種一個是*Bacillus*，一個是*Pseudomonas*。事實上並沒有跳離過去所鑑定的。只是說它是本土化的微生物，所以我們也是拿到菌種中心去鑑定。這裏面就是說，菌種本身就是說我們現在知道很有趣的一件事情就是說爲什麼我們要作本土化的菌種。因爲菌種一直從國外往國內送進來，這有一種潛在的危險，也就是說我們爲什麼要發展自己的菌種。這其中有個很有趣的問題，土壤微生物不像是醫學微生物，所以我們用醫學微生物或病菌的鑑定方式會發現很多，做愈多愈不是，就是你去證明用生化鑑定法，你做愈多的生化鑑定，愈躍不進去所有的屬和種，這是在土壤微生物。所以我們發現菌本身的基因在土壤裏面交換的情形是非常嚴重的，不像一個人的病害。所以我們很多的研究上面和醫學研究是有很大的差別。所以菌種中心對菌種的鑑定上，愈做愈多也是掉不進去的原因。

Function and Application of P-Solubilizing Microorganisms

Chiu-Chung Young[(1)], Cheng-Tang Chang[(2)], and Feng-Ping Chang[(3)]

[(1)] Department of Soil Science，National Chung Hsing University
[(2)] Hsing Nung Inc.
[(3)] Taiwan Tea Experiment Station

Abstract

Phosphorus is one of macronutrients for the plant. The forms of P in soils are including inorganic and organic P. After application of P-fertilizers into soils，large amounts of P are fixed by soils into insoluble types which are not available to the plant. P is not easy mobile and leaching from the soil，and it cause the accumulation of P in the agricultural soils. P-solubilizing microorganisms can dissolve or solubilize those inorganic and organic P in the soil.

P-solubilizing microorganisms are including bacteria，actinomycetes，and fungi，amoung them mycorrhiza can be as a P-solubilizing microorganisms in the rhizosphere. The studies showed that P-solubilizing microorganisms dissolved calcium phosphate in the medium，and increased radical growth in the seed bioassay. The results showed that P-solubilizing microorganisms increased the growth of peanut，chamaecyparis，leuceana，and tea plants in field experiments. Inoculation with both P-solubilizing microorganisms and VA mycorrhiza can be more stable and promising results. The application of P-solubilizing microorganisms increase crop production in many reports. P-solubilizing microorganisms not only increased P availability in soils，but also can increase the root growth and nutrient absorption of crops. It is need more further study in hormone activity of P-solubilizing microorganisms.

Key words: P-solubilizing microorganisms，Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi，Phosphorus.

溶磷眞菌的溶磷機制

簡宣裕　吳繼光
臺灣省農業試驗所農化系

摘　要

磷是所有生物重要的營養成分之一，目前爲止磷最常被植物吸收利用的化合物是以自由態無機磷酸鹽(例如HPO_4^{-2}、$H_2PO_4^-$)爲主。土壤溶磷眞菌(菌根菌等)可分泌磷酸酵素(Phosphatase)，將含磷有機化合物(Phosphoesters、Nucleic acid等)及含磷無機化合物(Pyrophosphate、metaphosphate等)加以解離，釋出自由態無機磷酸鹽。或者在生長過程中釋出具有嵌合基之代謝有機酸如糖膠酸(Glycollic acid)、琥珀酸(Succinic acid)等可與土壤中鈣、鐵等金屬離子嵌合成複合物，增加釋出自由態無機磷酸鹽，此外亦可降低土壤pH，使磷礦石、磷灰石等含磷化合物之溶解度增加。不同氮、碳源及鉀濃度也會影響溶磷眞菌的溶磷能力。玉米粒和溶磷眞菌一起施入土壤，可以顯著增進土壤有效磷濃度。一般而言土壤中溶磷眞菌以*Aspergillus*、*Penicillium*爲主。溶磷眞菌比溶磷細菌較能使土壤中沉澱之磷酸鈣、磷礦石溶解而釋出自由態無機磷酸鹽，眞菌溶磷能力可以達到細菌溶磷能力的十倍左右。溶磷眞菌比溶磷細菌較能保持溶磷特性，有的溶磷細菌在實驗室中經繼代培養(Subculture)後，便失去溶解磷化合物的能力。

關鍵字：磷肥、眞菌、溶磷機制

前　言

磷是生物生長必要的巨量元素，它與細胞脂質、蛋白質、核酸、磷酸糖的形成有密切關係。一般而言它在細胞中所佔的重量百分率大約是0.2%[36]，磷是種子重要的貯存物且與根的伸長、植物體的生長與成熟，息息相關。土壤磷主要是以$H_2PO_4^-$、HPO_4^{-2}形態經由植物根部根毛吸取而進入植物的體內[39]。土壤對磷肥的固定能力非常強，當磷肥施用後大約僅有5-20%能被栽培作物吸收利用，其餘的絕大部份是被土壤固定住，或被微生物吸收利用於合成細胞體成分，這些被固定住的磷，只有少部份可以緩慢釋放出來供作物吸收利用[10]。耕地土壤中雖然已累積相當量的磷，但是大部份對作物而言爲無效性磷源，所以每年還須添加多量的化學磷肥，才能滿足作物生長的需要。因此如何有效的利用這些累積在土壤中的磷肥，是值得加以重視，而對溶磷菌溶磷機制的瞭解，則是有效利用土壤中累積磷肥的基本課題。

土壤中磷含量及溶磷菌分佈

Kucey[30] 在加拿大南方，採取土壤樣品進行試驗，發現土壤中平均有效磷濃度只有 6.8 ppm。Hayman [22]評估土壤中有效磷濃度爲全磷濃度的1%。台灣耕地土壤之全磷加權平均濃度是1073 ppm[2] (表一)，大約69%耕地土壤的有效磷濃度低於20 ppm[1] (表二)。依此估算，臺灣土壤有效磷濃度大約是土壤全磷加權平均濃度的3.3%，還有96.7%的磷尚待開發利用。

表一、臺灣耕地土壤鹽酸可溶性磷含量[2]

土　　類	熱鹽酸可溶P_2O_5(%)	樣本數
紅、黃壤	0.10	48
砂、頁岩沖積土(北　部)	0.08	99
砂、頁岩沖積土(南　部)	0.11	61
粘板岩沖積土	0.15	28
鹽漬沖積土	0.15	27
片岩沖積土	0.12	8
片岩、石灰岩混合沖積土	0.18	6
加權平均濃度	0.1073	277

表二、臺灣耕地土壤的有效磷[1]

有效磷(ppm P)	分佈 (%)
0-4 (極低)	7
5-10 (低)	30
11-20 (中)	32
>20	31

土壤有效磷除了可來自肥料添加外，土壤中原有含磷有機化合物及含磷無機化合物的解離，亦可以增加土壤有效磷濃度，而土壤磷的解離、釋放出有效磷與溶磷菌有密切的關係[25]。土壤中溶磷菌可以大略的分成3大類，即溶磷細菌和溶磷眞菌和溶磷放線菌[44]。溶磷細菌最常見的有*Bacillus*、*Pseudomonas*、*Escherichia*、*Xanthomonas*、*Flavobacterium*、*Brevibacterium*、*Serratia*、*Alcaligenes*、*Achromobacter*、*Aerobacter*、*Erwinia*、*Nitrosomonas*、*Thiobacillus*、*Micrococcus* 14種。溶磷眞菌最常見的有*Aspergillus*、*Penicillium*、*Fusarium*、*Curvularia*、*Humicola*、*Sclerotium*、*Pythium*、*Acrothecium*、*Phoma*、*Mortierella*、*Paecilomyes*、*Cladosporium*、*Rhizoctonia*、*Cunnirghumella*、*Rhodotorula*、*Candida*、*Schwanniomyces*、*Oideodendron*、*Pseudogymnoascus* 20種。溶磷放線菌有*Streptomyces*、*Mycobacterium* 2種[3]。

溶磷菌在土壤中的族群數目和土類、耕作方式有密切關係[29,52]。Yin[52]調查中國大陸旱地土壤中溶磷菌族群，得知以黑鈣土(Chernozems)的48.9X10^6最多，依次爲黃棕壤(Yellow brown earth)的20.4X10^6、灰白型土壤(Albic soils)的16.8X10^6、磚紅壤(Latosols)、紅棕壤(Red earths)，而以鹼土(Al-kaline soils)的20X10^3及鹽土(Salt soils)的5.59最少(表三),他認爲有機質的含量以黑

表三、中國大陸旱田土壤溶磷菌族群數[52]

土　　　　壤	個/克乾土
Alkaline soils	20 $\times 10^3$
Salt soils	5.59
Chernozems	48.9 $\times 10^6$
Yellow brown earth	20.4 $\times 10^6$
Albic soils	16.8 $\times 10^6$
Red earths	1.0 $\times 10^6$
Latosols	0.98 $\times 10^6$

鈣土、黃棕壤最多，紅棕壤有機質含量較少且pH較低，鹼土pH太高，鹽土滲透壓太高，溶磷菌不易在這些土壤中生長，因此這些土壤的溶磷菌族群數目較少。溶磷真菌與土壤性質有密切關係，在不同土質之椰子樹田之族群數目，以粘土(Clayey) 6.27X10^3最多，其次爲沖積土(Alluvial) 5.59X10^3、赤紅壤(Lateritic) 5.26X10^3，而以砂質土的2.23X10^3最少[47]，可見溶磷真菌在土壤中的族群數量，或許與土壤粒子的表面積及保水能力大小有關係。

只將溶磷菌施入土壤中，不能有效地建立起大量溶磷菌族群，若將有機物同時和溶磷菌施入土壤，則可以有效地建立起溶磷菌族群和增加土壤有效磷的濃度[18]。將玉米碎粒和本所分離、純化得到的溶磷菌同時施入土壤中，一星期後測定0-5cm及5-10cm土壤的溶磷菌數目，SM-1、SM-5溶磷菌+玉米粒處理0-5cm土壤的溶磷菌數可達1X10^7、6X10^7，遠比土壤背景的溶磷菌3X10^2數多，施加玉米粒處理0-5cm土壤的溶磷菌數爲6X10^6，亦遠多於土壤背景的溶磷菌數目(表四)，由此試驗結果再次印証了欲促進土壤溶磷菌數目增加，有機物添加是必要的。

溶磷真菌與溶磷細菌比較

土壤中溶磷真菌與溶磷細菌分別佔土壤中全部真菌、全部細菌的0.5%、1%，溶磷微生物中60%是真菌，以*Aspergillus*、*Penicillium*爲主，40%是細菌[30]。溶磷真菌的溶解磷礦石的能力比細菌強[4,6,15,45]，且在培養基中溶磷真菌較早表現出溶磷能力，且維持至整個生長期，大多數溶磷真菌的溶磷能力在繼代培養時能保持較久，許多溶磷細菌在培養基中，菌落的生長較慢，且第1次繼代培養後便失去了溶磷能力(表五)，一般而言真菌只有1.5%失去溶磷能力，但細菌則47.4%失去溶磷能力[30,45]。

表四、玉米碎粒及溶磷菌添加於土壤對溶磷菌數目之影響

處　　理	溶磷菌數目(個/克土壤)	
	0-5cm	5-10cm
SM-1 +玉米	$1x10^7$	$4x10^2$
SM-5 +玉米	$6x10^7$	$2x10^2$
SM-35+玉米	$6x10^6$	$1x10^5$
SM-47+玉米	$3x10^6$	$8x10^2$
+玉米	$6x10^6$	$1x10^5$

SM-1、SM-5、SM-35、SM-47：本所分離、純化之溶磷菌。
土壤背景溶磷菌菌數$3X10^2$。

表五、Summary of phosphate-solubilizing ability of bacterial and fungal groups isolated from southern Alberta soils[31]

Solubilized P (μgP)$^+$	Number of isolates	
	Bacteria	Fungi
0	21^{++}	0
1-100	10	1^{++}
101-500	7	2
501-1000	4	1
1001-2000	1	10
2001-5000	1	43
5001-10000	0	7
10001-13000	0	4
	44	68
Average	401 μg P	3716 μg P
Range	7-2653 μg P	373-12839 μg P

$^+$ In an 8-day growth period.
$^{++}$ Colonies losing PS ability when subculture.

溶磷眞菌增進土壤有效磷之機制

一、 分泌磷酸酵素解離含磷有機化合物及含磷無機化合物

森林土壤表土中，大部份的磷是以有機態存在，有機磷有時可以達到全磷的50-60%[16]。土壤中含磷有機化合物超過30種，但大多爲磷脂質(Phospholipid)、Phosphoglycerides、核酸、Phytin、核酸胺化合物等[9,18]，眞菌可分泌4種磷酸酵素:Phosphomonoesterase、phosphodiesterase、phosphotriesterase、phosphoamidase[28,42,46]及phytase[20]，分解土壤中含磷有機化合物。

外生菌根菌可以顯著地增加寄主作物根部對磷酸鹽的吸取[13]。Woolhouse[51]證明在山毛櫸菌根(Beech mycorrhizae)有一種活性磷酸酵素存在；在4年之後，Bartlett及Lewis[8]指出山毛櫸菌根的酸性磷酸酵素可以催化p-nitrophenyl phosphate、Glucose-6-phosphate、β-Glycerophosphate、Inositol hexaphosphate、Inositol triphosphate等含磷有機化合物，及Pyrophosphate等含磷無機化合物的解離，釋放出磷酸鹽(phosphate)，此種酸性磷酸酵素存在於山毛櫸菌根的菌絲鞘(Fungal sheath)中[50]。不同外生菌根真菌所分泌的酸性磷酸酵素就不同(表六)，促進寄主作物對土壤磷的吸取效果亦有差異[5,24]。

表六、Comparative levels of pNPPase activity in mycorrhizal tissue[5]

Tissue	Assay temp. ℃	Subtrate conc. mM	μ moles hydrolyzed /g fresh wt. min	Reference
Excised Picea mycorrhizas	25	1.0	0.06—0.75	Alexander and Hardy 1981[5]
Excised Fagus mycorrhizas	20	1.0	0.51±0.05[a]	Woolhouse 1969[52]
Excised Fagus mycorrhizas	20	1.0	0.45—0.66[a]	Williamson and Alexander 1975[51]
Ectomycorrhizal fungi	35	23.0	0.01—0.48[b]	Ho and Zak 1979[24]
Calluna endophyte	20	3.6	0.62—4.17[b]	Pearson and Read 1975[36]

[a] Assumed mm^2 surface area to fresh wt ratio of 7000.
[b] Assumed dry wt/fresh wt ratio of 0.05.

內生菌根也可能分泌磷酸酵素。以往學者認爲內生菌根菌可與主作物形成菌根，促進作物對土壤磷吸取的機制，主要是內生菌根菌菌絲的伸展，增加了植物對土壤磷的吸收面積及範圍[20,34]，雖然在1980年代之後有學者陸續發現具有內生菌根的植物,其根圈磷酸酵素含量會增加，因而提出內生菌根菌亦可能分泌磷酸酵素,分解土壤中含磷有機化合物的論點[23,48,49]，但一直未能獲得實驗上的證明。直到Jayachandran等人[27]，在人工生長介質(growth medium)添加幾種含磷有機化合物,比較菌根植物和非菌根植物的生長及對磷的吸取,試驗結果顯示添加phytic acid、RNA、ATP或cMP 於生長介質中並不能增進非菌根植物的生長及對磷的吸取,但是能增加菌根植物的生長及對磷的吸取。殺過菌的

草原土壤加入含P^{32}有機化合物(Cystine 3'- and 5'-diphosphate)，比較菌根植物和非菌根植物對的吸取量，試驗結果爲內生菌根植物吸取P^{32}量是非菌根植物的500至6000倍(表七)。由上述Jayachandran的2個試驗結果，證明內生菌根菌可以直接或間接以磷酸酵素解離土壤中含磷有機化合物以供寄主作物吸取利用。

非菌根菌之眞菌亦具有分泌磷酸酵素分解含磷有機化合物的能力，Molla等人[33]從根圈及非根圈分離、純化出溶磷眞菌，然後回接於含磷有機化合物的土壤中，發現在第45天內含磷有機化合物被礦化的速率最快，多種眞菌混合後，接種於土壤中，可使含磷有機化合物在45天內礦化釋放出29%磷，使其變爲有效磷。

表七、Plant growth and P uptake in a native prairie soil amended with organic ^{32}P and the mycorrhizal fungus, *Glomus etunicatum*[27]

Treatments	Total dry matter (mg)	Total P uptake (μg)	Shoot ^{32}P count (count min^{-1})
Non-myc			
0 mg P Kg^{-1}			
No sievings	39c	11d	57c
Sievings	38c	13d	74c
25 mg P Kg^{-1}			
No sievings	149b	47d	117c
Sievings	138b	41d	110c
0 mg P Kg^{-1}			
No sievings	186b	88c	252c
Sievings	188b	89c	210c
Myc			
0 mg P Kg^{-1}			
No sievings	313a	323b	136,136b
Sievings	373a	379a	368,164a

Mean values in the same column followed by the same letter not significantly different (P>0.05) as determined by the LSD test.

二、 非酵素性解離含磷無機化合物

許多學者比較菌根植物與非菌根植物對各種不同溶解度含磷無機化合物的反應，發現當土壤施用低溶解度磷化合物時，菌根植物比非菌根植物生長良好且磷的吸取量多[41]，當氫氧化鐵加入土壤後，非菌根植物生長及磷的吸取就會減少，但菌根植物沒有受到影響。將膠性磷酸鐵(Colloidal iron phosphate)、結晶型磷酸鐵(Strengite)、磷酸二氫鉀加入土壤後，接種內生菌根菌*Glomus fasciculatum*之毒麥(Ryegrass)比不接種菌根菌之毒麥，生長較好且對磷吸取量較多，尤其當土壤加入低溶解度之結晶型磷酸鐵時，接菌根菌毒麥的生長及磷吸取量遠大於不接種菌根菌者[11]，一般而言菌根可以較非菌根能伸展

，擴大養分吸收的面積，且內生菌根能分泌出，外生菌根菌能分泌Hydroxamate siderophores和低pH土壤中的鐵或和石灰質土壤中之鈣嵌合，而使土壤中磷的有效性增加，促進作物的生長及對磷的吸取(12,17,26,32,43)。

溶磷眞菌將細胞質內產生之H^+送至細胞外表面，在此H^+和細胞周圍陽離子，特別是NH_4^+交換，於是H^+被釋出至微生物體外，因此低溶解度含磷無機化合物，便在微生物細胞表面或細胞週圍被H^+溶解，釋出$H_2PO_4^-$或HPO_4^{-2}(10)。由表八的資料(25)可以知道，雖然眞菌在培養基中，生長6天後之pH只有6.44，遠比0.1M HCl加入培養基中的3.80高，但接種眞菌培養基中的有效磷濃度爲46.7ppm，仍大於純鹽酸溶液溶解出的有效磷濃度33.5ppm，故眞菌解離低溶解度含磷無機化合物的機制，除了因分泌H^+，降低環境中pH，促使低溶解度磷酸鈣解離外，還有另外可能的機制存在。

表八、Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms and HCl in medium after 6 days. All results are different ($P<0.01$) for next column;amounts of P are given in ppm(25)

	Isolate 18	Isolate 29	HCl	Control
pH	3.45	6.44	3.80	6.79
P	51.7	46.7	33.5	24.2

溶磷眞菌另外一種溶磷機制是這些溶磷眞菌藉由生長、活動過程中分泌出有機酸，如乳酸、檸檬酸、琥珀酸、2-酮基葡萄糖酸、糖膠酸、草酸等嵌合基和土壤中的鈣、鐵等金屬離子嵌合生成複合物(complex compound)，減少這些金屬離子和磷酸鹽形成不溶性磷化合物，因而使得土壤中有效磷的濃度增加(19,21,30,37,38,45)。不同微生物則有機酸釋放的種類就不一樣，糖膠酸(Glycollic acid)、乳酸爲溶磷眞菌和細菌最常見的具有嵌合作用之有機酸(表九)。此外眞菌菌絲內部會分泌草酸鹽及其他有機酸來和鈣離子結合，可以累聚鈣離子(Ca^{++})在菌絲內，故使得有效磷濃度增加(10)。

表九、Influence of organisms and incubation upon release of phosphate by organic acids[46]

Organism	Incubation days	Apatite solubilized (%)	Total titratable acidity (μ.equiv./ml)	Principal nonvolatile acids produced
A. niger	3	100	55	Citric,Glycollic,Succinic, Oxalic
Penicillium spp.	4	16	3	Nil
	12	74	25	Lactic,Glycollic
Nocardia spp.	6	52	5	Succinic,Glycollic
	10	57	6	Succinic,Glycollic
Bacterium S_470	7	54	8	Lactic
	14	71	8	Lactic,Glycollic
E. freundii	3	100	25	Lactic

表十、Minimum solution pH and maximum P in solution caused by two *Penicillium* isolates with and without NH_4^+[7]

penicillium isolate	Min. soln pH	Max. P conc. (μ ml^{-1})	P in soln (mg)	P in soln by 0.1 N HCl at same (mg)[1]	P(fungi) / P(acid)
			Medium A[2]		
P. bilaji	3.7^{a}	298^{a}	14.2^{aA}	4.5^{bB}	3.2
P. fuscum	4.1^{b}	203^{b}	10.2^{bB}	1.6^{bB}	6.4
			Medium B[3]		
P. bilaji	4.0^{b}	46^{b}	2.5^{cA}	2.1^{cA}	1.2
P. fuscum	6.2^{a}	7^{d}	0.4^{cA}	0.1^{dB}	6.7

[1] After 10 days exposure to acid.

[2] Medium A-equimolar NH_4^+ and NO_3^--N.

[3] Medium B-NO_3^--N only.

a-d: In either medium, means with the same subscript letter are not statistically different(P<0.01).

A,B: Comparison of P in solution(due to fungal action and to added HCl), means with the same subscript letter are not statistically different(P<0.01).

三、 影響溶磷眞菌溶磷機制的因子

以往學者對於含磷無機化合物被溶磷眞菌解離釋出磷酸鹽的現象，只注意到酸化作用(acidification)、嵌合作用(chelation)及和作物生長的環境[39,40,43]。其實溶磷眞菌解離含磷無機化合物，釋放出磷酸鹽的能力，亦與下列因子有關：

1. 不同氮源及濃度的影響

銨態氮比硝酸態氮較有利於溶磷眞菌的溶磷能力[7]。以*Penicillium bilaji*及*P. fuscum*爲例，於含銨態氮培養基中，此2菌株溶解磷灰石釋而放出磷的濃度分別爲、，但上述2眞菌於只含硝酸態氮培養基中，對磷灰石的溶解而釋放出來磷的濃度分別只有46 ppm、7 ppm(表十)，由表十的p(fungi)/p(acid)分別爲3.2、6.4數值，可以推論出在含銨態氮時，此2種眞菌對低溶解度含磷無機化合物的溶解機制，並非主要由於溶磷眞菌生長過程，釋出+離子造成週圍環境pH下降的結果，而是溶磷眞菌產生較多量的嵌合基。嵌合基可與Ca^{++}離子、Fe^{+++}離子、Al^{+3}離子嵌合，使得磷酸鹽被沈澱的機會減少，因此培養液中磷的濃度會較高[19,26,45]，而在只含硝酸態氮情況下，*P.bilaji*及*P. fuscum*溶解磷灰石的機制，則與眞菌生長使環境pH下降有密切關係，*P. fuscum*不能產生足夠的酸去中和磷灰石的鹼性，因此溶解磷灰石的能力遠小於*P. bilaji*(表十)。氮濃度亦會影響微生物解離含磷無機化合物的能力，當溶液中氮源濃度爲65 ppm時，培養液中被溶出的磷濃度最低，可能原因是雖然溶磷菌可以解離含磷無機化合物，增加有效磷的濃度，但在這種氮濃度下，因爲很合適溶磷微生物細胞的增殖生長，微生物由周圍吸取較多量的磷酸鹽($H_2PO_4^-$、HPO_4^{-2})用來合成細胞體質，故在此氮源濃度下被溶出的磷濃度最低[7,14,25]。

2. 有效性磷存在的影響

例如*Aspergillus niger*在有或沒有可溶性磷酸鹽時，皆能夠有同樣的解離低溶解度磷化合物的能力，但*Penicillium lilacinum*、*A. flavus*、*A. terreus*及*A. nidulans*解離低溶解度含磷無機化合物的能力，則受到可溶性磷酸鹽抑制的影響[15]。

3. 碳源、鉀源濃度之影響

玉米粒施入0-5cm土壤中，經1星期後，測定不同深度有效磷濃度(表十一)。得知溶磷菌SM-1、SM-5、SM-35、SM-47分別和玉米粒同時加入土壤，可以顯著地增加有效磷濃度，其濃度分別爲129 ppm、139 ppm、100 ppm、100 ppm，遠大於土壤背景濃度17 ppm。測定5-10cm處土壤有效磷濃度亦有增加的情形，但各試驗處理15 cm以下土壤有效磷濃度和背景濃度沒有差別，因此可見溶磷菌必須有充足的碳源做爲能源，才能發揮出溶磷的能力。

表十一、玉米粒及溶磷菌添加於土壤對有效磷濃度之影響(ppm)

處　　理	有效磷濃度 (ppm)			
	0-5 cm	5-10 cm	10-15 cm	15-20 cm
SM-1 +玉米	129a	33a	18a	18a
SM-5 +玉米	139a	35a	18a	17a
SM-35+玉米	100b	34a	17a	17a
SM-47+玉米	100b	37a	15a	15a
+玉米	68c	30a	16a	18a

SM-1、SM-5、SM-35、SM-47：本所分離、純化之溶磷眞菌。
同行數字若後面英文字母相同者，表示在5%水準差異不顯著。

本研究室曾進行溶磷眞菌(TARI 318)、溶磷細菌(TARI 338)在不同碳源(。溶磷眞菌的溶磷能力在含蔗糖培養基中與在米糠者相似，皆遠大於在玉米粉培養基。溶磷細菌(TARI 338)只在含蔗糖培養基中有較好的溶磷效果，可能與玉米粉、米糠所含的碳源大部份是澱粉，TARI 338溶磷細菌不能利用這些碳源在培養基中繁衍生長，所以溶磷能力低(表十二)。故溶磷菌在土壤中之存活及溶磷能力與碳源種類有密切關係，易被分解之碳源如葡萄糖、蔗糖等，一般而言有利於溶磷菌的生長與溶磷能力的表現。

表十二、不同碳源對溶磷眞菌、細菌解離磷酸鈣釋出有效磷的影響

時　　間	有效磷濃度 (ppm)					
	蔗　　糖		玉　米　粉		米　　糠	
	TARI[1] 318	TARI[2] 338	TARI 318	TARI 338	TARI 318	TARI 338
0 天	6.0	5.9	25	24	30	30
3 天	345	366	59	67	308	20
6 天	432	272	131	60	572	32
9 天	501	148	112	71	681	29

TARI[1] 318：眞菌　TARI[2] 338：細菌

溶磷真菌解離低溶解度含磷無機化合物和碳源濃度也有密切關係。將培養基中之蔗糖濃度調為2、4、8、16、32 g/l，然後接種溶磷菌，試驗結果以4g sugar/l最適合溶磷菌解離含磷無機化合物，而不是較高濃度8、16、32g sugar/l，此種原因可以解釋為通常微生物生質生長的次適合條件下之碳源濃度，是微生物生產代謝產物(Metabolite)的最好濃度[25]。

鉀離子對細胞的吸取磷扮演重要的角色，因鉀可以維持細胞電荷的穩定[10]。當培養液中鉀濃鉀濃度為300 ppm時，溶液中有效磷的濃度最低，此或許在300 ppm鉀時，微生物生長繁衍時會自培養基吸取大量有效磷的緣故有關[7,14]。

參考文獻

1. 林家棻 1967 臺灣省農田肥力測定。臺灣省農試所報告28號。
2. 張守敬 1951 臺灣省土壤肥力概述。臺灣省農試所報告7號。
3. 江晃榮 1993 農業生物技術。華香園出版設印行。333-338頁。臺北，臺灣。
4. Ahamed, N. and Jha, K. K. 1968. Solubilization of rock phosphate by microorganisms isolated from Bihar soils. J. Gen. Appl. Microbiol. 14:89-94.
5. Alexander, I. J. and Hardy, K. 1981. Surface phosphatase activi-ty of sitka spruce mycorrhizas from a serpentine site. Soil Bio-chem. 13:301-305.
6. Arora, D. and Gaur, A. C. 1979. Microbial solubilization of different inorganic phosphates. Indian J. Exptl. Biol. 17:1258-1261.
7. Asea, P. E. A., Kucey, R. M. N. and Stewart, J. W. B. 1988. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture and soil. Soil Biology & Biochemistry 20:459-464.
8. Bartlett, E. M., and Lewis, D. H. 1973. Surface phosphatase activity of mycorrhizal roots of beech. Soil Biol. Biochem. 5:249-257.
9. Barrow, N. J. 1961. Phosphorus in soil organic matter. Soil Fertility 24:169-173.
10. Beever, R. E. and Burns, D. J. W. 1980. Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi. Advances in Botanical Research 8:127-219.
11. Bolan, N. S., Robson, A. D., Barrow, N. J. and Aylmore, L. A. G.1983. Specific activity of phosphorus in mycorrhizal and non-mycorrhizal plants in relation to the availability of phosphorus to plants. Soil Biol. Biochem. 16:299-304.
12. Bolan, N. S., Robson, A. D. and Barrow, N. J. 1987. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the availability of iron phosphates to plants. Plant Soil 99:401-410.
13. Bowen, G. D. 1973. Mineral nutrition of ectomycorrhizae. In : Ectomycorrhizae-their ecology and physiology, pp.151-205. Edited by Marks, G. C. and Kozowski, T. T. Academic press. New York.
14. Cabala-Rosand, P. and Wild, A. 1982. Direct use of low grade phosphate rock from Brazil as fertilizer II. Effects of mycorrhizal inoculation and nitrogen source. Plant and Soil 65:363-373.

15. Chhonkar, P, K. 1979. Soil microorganisms in relation to availability of soil phosphorus to plants. In:Phosphorus in soils, crops and fertilizers. Bull. No. 12 Indian Society of Soil Science, New Delhi.

16. Cosgrove, D. J. 1967. Metabolism of organic phosphate in soil. In: Soil Biochemistry. Vol, 1, pp.216-228. Edited by McLaren, A. D. and Peterson, G. H. Dekker, New York.

17. Cromack, K., Soillins, Jr. P.,̇ Graustein, W. C., Speidel, K., Todd, W. A., Spycher, G., Li, C. Y. and Todd, R. Ld. 1979. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypoeous fungus *Hysterangium cassum.* Soil Biol. Biochem. 11:463-468.

18. Dalal, R. C. 1982. Effect of plant growth and addition of plant residues on the phosphatase activity in soil. Plant and Soil 66 :265-269.

19. Dissing, N. J. and Eiland, F. 1980. Investigation on the relationship between P-fertility, phosphotase activity and ATP content in soil. Plant and soil 57:95-103.

20. Duff, R. B., WEBLEY, D. M. and SCOTT, R. O. 1963. Solubilization of minerals and related materials by 2-ketogluconic acid producing bacteria. Soil Sci. 95:105-114.

21. Gerdemann, J. W. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. Annual Review of Phytopathology 6:397-418.

22. Hayman, D. S. 1975. Soil Microbiology. Butterworth, London.

23. Hepper, C. and Warner, A. 1983. Role of organic matter in growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in soil. Transactions of the British Mycological Society 81:155-156.

24. Ho, I. and Zak, B. 1979. Acid phosphatase activity of six ectomycorrhizal fungi. Canadian Journal of Botany 57:1203-1205.

25. Illmer, P. and Schinner, F. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. Soil Biol. Biochem. 24(4):389-395.

26. Jayachandran, K., Schwab, A. P. and Hetrik, B. A. D. 1989. Mycorrhizal mediation of phosphorus availability: Synthetic iron chelate effects on phosphorus solubilization. Soil Sci. Soc. Am. J. 53:1701-1706.

27. Jayachandran, K., Schwab, A. P. and Hetrik, B. A. D. 1992. Mineralization of organic phosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem. 24(9):897-903.

28. Kiss, S., Bularda, M. D. and Radulescu, D. 1975. Biological significance of enzymes accumulated in soil. Advances in Agronomy 27:25-87.

29. Kobus, J. 1962. The role of microorganisms in the transfromation of phosphoric compounds in the soil. Acta Microbiol. 11:255-262.

30. Kucey, R. M. N. 1983. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. Canadian Journal of Soil Science 63:671-678.

31. Kucey, R. M. N. 1987. Increased phosphorus uptake by wheat and field beans inoculated with a phosphorus-solubilizing *Penicillium bilaji* strain and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Applied Environmental Microbiology 53:2699-2703.

32. Lapeyrie, F. 1988. Oxalate Synthesis from soil bicarbonate by the mycorrhizal fungus *Paxillus involutus.* Plant Soil 110:3-8.

33. Molla, M. A. Z. and Chowdhury, A. A. 1984. Microbial mineralization or organic phosphate in soil. Plant and Soil 78:393-399.

34. Mosse, B., Hayman, D. S. and Arnold, D. J. 1973. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake from 32P labelled soil solution by three plant species.New Phytologist 72:809-815.

35. Pearson, V. and Read, D. J. 1975. The physiology of the mycorrhizal endophyte of *Calluna culgaris*. Transactions of the British Mycological Society 64:1-7.

36. Phillip, S. and Donald, E. B. 1987. Cell and molecular biology. third edition. John Wiley and Sons,Inc. pp.78.

37. Pikovskaya, R. I. 1949. Microbiology, Moscow. Soils & Fert. 12:347.

38. Raper, A. and Thom, W. 1968. Topic bibliography of acid production. In:Manual of Penicillia, pp.709-713. Edited by Raper, A. and Thom, W. Hafner, New York.

39. Rendig, V. V. and Taylor, H. M. 1989. Principles of Soil-Plant Interrelationships, pp.20. McGraw-Hill, New York.

40. Roos, W. and Luckner, M. 1984. Relationship between proton extrusion and fluxes of ammonium ions and organic acids in *Penicillium cyclopium*. Journal of General Microbiology 130:1007-1014.

41. Ross, J. P. and Gilliam, J. W. 1973. Effect of *Endogone* mycorrhiza on phosphorus uptake by soybeans from inorganic sources. Soi Sci. Soc. Am. J. 37:237-239.

42. Skujin, J. 1976. Extracellular enzymes in soil. CRC critical Reviews in Microbiology 4:383-421.

43. Szaniszlo, P. J., Powell, P. E., Reid, C. P. P. and Cline, G. R. 1981. Production of hydroxamate siderophore iron chelators by ectomycorrhizal fungi. Mycologia 6:1158-1174.

44. Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. Aust. J. of Agric. Res. 9:778-781.

45. Sperber, J. I. 1958. Solution of apatite by soil microorganisms producing organic acids. Aust. J. Agric. Res. 9:782-787.

46. Tabatabai, M. A. 1982. Soil enzymes. In method of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties (Page, A. L., Miller, R. H. and Keeney, D. R., Eds), 2nd Edn, pp.903-948. American Society of Agronomy, Madison.

47. Thomas, G. V. 1985. Occurrence and ability of phosphate solubilizing fungi from coconut plant soils. Plant and Soil 87:357-364.

48. Warner, A. 1984. Colonization of organic matter by vesicular-arbuscular mycorrhizal fung in soil. Transactions of the British Mycological Society 82:352-354.

49. Warner, A. and Mosse, B. 1980. Independent spread of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Transactions of the British Mycological Society 74:407-410.

50. Williamson, B. and Alexander, I. J. 1975. Acid phosphatase localized in the sheath of beech mycorrhiza. Soil Biol. Biochem. 7:195-198.

51. Woolhouse, H. W. 1969. Differences in the properties of the acid phosphatase of plant roots and their signifcance in the evolution of edaphic ecotypes. pp.357-380. In Ecological aspects of the mineral nutrition of plants. Edited by Rorison, I. H.

52. Yin, R. L. 1988. Phosphate dissolving microorganisms in up land soils in China. Soils(Turang). Published by Chinese Acad. Sci. 20(5):243-246.

討　論

台大農化系賴朝明問:

1. 溶磷菌的定義?
2. 如果溶磷菌之機制包括溶磷有機磷之磷酸酵素,那麼在進行此類接種溶磷菌入土壤之研究時,如何去區分其釋出之無機磷是來自於接種入土壤之溶磷菌或是來自於植物根或是原存在於土壤中之磷酸酵素?
3. 請問溶磷菌接種入土壤之效果與土壤之之關係?

省農試所簡宣裕答:

一般認爲溶磷菌的定義狹義的是指溶磷細菌與眞菌。最近幾年一些學者陸續也像我剛剛介紹那些證明,溶磷眞菌也應該把菌根菌納入,的確菌根菌也具有這種效果,以前大家對它的了解比較沒有那麼透徹,現在慢慢了解菌根菌也是屬於溶磷眞菌的一個。再來說提到溶解酵素在不同的有不同的表現,溶解酵素大致可分成兩種,鹼性磷酸酵素和酸性磷酸酵素,做土壤酵素的人在這一方面有一些資料,我看過它們確實有很大的影響。

Mechanisms of Phosphate-dissolving by Fungi

Chien, S. Y. and Wu, C. G.
Soil Microbiology Lab, Department of Agricultural Chemistry, Taiwan Agricultural Research Institute, Wu-feng, Taichung, Taiwan, R.O.C.

Abstract

Phosphorus is an important element of living things. Usually, phosphorus is taken up by plants in free forms of inorganic phosphate, such as $H_2PO_4^-$, HPO_4^{-2}. Some soil-borne phosphate-dissolving fungi (including mycorrhizal fungi) can release phosphatase to dissolve organic and inorganic phospho-compounds. These fungi may also produce some metabolites such as glycollic acid, succinic acid, which can act as chelators binding calcium or irons in the soil, and then increase indirectly the concentration of available phosphate. Additionally, the organic acid may decrease the pH of the soil, and enhance the solubility of rock phosphate or apatite. The variety of nitrogen and carbon sources, and potassium concentration in culture medium may also influence the phosphate-dissolving ablility of fungi.

Corn grains and phosphate-dissolving fungi incorporated into soil at the depth of 0-5 cm, can increase the concentration of available phosphate at the depth of 0-10 cm. Normally, *Aspergillus* and *Penicillium* are the major genera of phosphate-dissolving fungi in soil. Phosphate-dissolving fungi show 10 times better phosphate-releasing effect on rock phosphate and calcium phosphate, if compared with phosphate-dissolving bacteria. Besides, fungi can maintain the phosphate-dissolving ability longer than bacteria.

Key words：Phosphorus, Fungi, Mechanisms of phosphate dissolving

茶園土壤中溶磷細菌生態調查及其應用

張鳳屏[1] 楊秋忠[2]
[1] 台灣省茶業改良場
[2] 中興大學

摘　要

茶土園土壤中溶磷細菌族群活動受土壤管理、肥料施用與氣候環境等因素之影響。經調查發現查省茶園土壤中溶磷細菌主要菌屬爲*Pseudomonas* sp.及*Bacillus* sp.。氣溫高，雨量充足，有利溶磷細菌繁殖；氣溫下降與雨量減少，則降低其活動。溶磷細菌數量在茶園根圈土壤較非根圈土爲高，且根圈土壤pH亦較非根圈土壤低，可能爲根系分泌有機酸及溶磷細菌相互作用的關係。相同環境土壤管理下，不同品種茶樹根圈土壤中溶磷細菌數量無多大改變。施用極低量與過量化學肥料將降低溶磷細菌數量，有機質肥料與化學肥料適量配合使用，可增進溶磷細菌族群繁殖，土壤有機質豐富可提供溶磷細菌能源而大量增殖。土壤pH、有效性磷(Mehlich No.3)、交換性鉀、鈣、鎂、錳、鋅及鋁含量與溶磷細菌數量無明顯相關，但土壤pH低於3.8，交換性鈣低於50 mg/kg或高於1000 mg/kg、土壤排水不良且施肥量過多，將減少溶磷細菌數量。

以塑膠袋扦插育苗方法，利用扦插過苗床之舊土與未耕種過茶之新土，接種囊叢枝菌根菌與溶磷細菌，以探討對茶苗生長之影響。試驗結果顯示新土中接種囊叢枝菌根菌、溶磷細菌或兩者同時接種，對青心烏龍及台茶12號扦插苗生長較無明顯增進效果，但在舊土中單獨接種囊叢枝菌根菌或溶磷細菌，則可增加台茶12號扦插苗生長，對青心烏龍則較不明顯。若二者同時接種則明顯促進青心烏龍與台茶12號扦插苗生長，達到累加的功效。

關鍵字：溶磷細菌、茶園根圈土壤、茶樹扦插苗

前　言

土壤中磷素的來源有兩種，其一是有機性磷酸鹽如動物或植物殘體組織中的植酸鹽、磷脂質、核酸磷、醣磷酸脂及輔酵素等有機化合物，此等有機化合物可經微生物礦質化(mineralization) 作用而釋出磷酸，以供作物吸收之磷素；另一則爲無機性磷酸鹽如過磷酸鈣、磷礦石及含磷爐渣等磷肥或土壤粘粒中所吸附的難溶性磷酸鹽，經微生物分泌有機酸溶解(solubilization)此等難溶性磷酸鹽而改變其溶解度，使易於溶入土壤溶液中，而利於作物吸收之磷素。以上具有礦質化有機磷及溶解難溶性磷酸鹽功能之微生物，稱爲溶磷菌(phosphorus-solubizing microorganisms)，包括細菌如*Pseudomonas* sp.、*Mycobacterium* sp.、*Micrococus* sp.、*Bacillus* sp.、與*Flavobacterium* sp.等[19]；眞菌如*Aspergillus* sp.與*Penicillum* sp.等[9]，放線菌如*Streptomyces* sp.等[18]。

影響溶磷細菌族群之分佈密度與組成，主要因子有土壤理化性質、施肥種類與方法、氣候條件、耕作方式及種植作物種類之不同而有所變動，鹼性土壤中約有90%以上之溶磷細菌存在，並依種植作物種類的不同，溶磷細菌族群分佈亦異[20]。含蒙特石類較多之土壤，因粒子微細、比面積大、吸附陽離子能力強及吸水力與塑性高，爲提供溶磷細菌族群繁殖之良好介質[13]。土壤有機質含量低於1%或土壤有效水分低於10%，將抑制溶磷細菌之活動[17]。耕作方式改善土壤團粒構造、孔隙度與通氣性及有機養分之提供，亦增強溶磷細菌活動。在乾燥或半乾燥地區較濕潤地區溶磷細菌密度爲低，可能與有機質低及氣溫有關[18]。

Gerretsen(1948)報告指出未經根部消毒處理之植物吸收土壤中磷量比根部經消毒處理之植物爲高，自此對根圈(rhizosphere)溶磷菌之研究甚多，但所得結果不太一致，可能因土壤管理與施肥方式、作物種類、環境條件及實驗技術的不同而有所差異。

有關溶磷細菌對作物生長之影響，有甚多報告指出接種溶磷細菌在石灰質土壤(calcareous soil)可增進大麥[11]、高梁[16]、蠶豆[10]、豌豆[8]及林木[21]等作物生長及磷素吸收。

茶樹適合生長在pH4.0～5.5之極強酸土壤中[2]，然此土壤中所含鐵及鋁之活性甚高，對磷之固定能力甚強，使土壤中可溶性磷大量轉變成難溶性磷酸鐵與磷酸鋁，茶樹爲吸收磷素乃利用根系分泌各種有機酸以吸收被固定之磷酸鐵與鋁[6]，雖然茶樹葉片含多量鋁，但並未發現鋁毒害，可能因茶樹葉片含多量多酚類及有機酸與鋁形成錯合物之故，若土壤中鋁含量低時茶樹生長反而不良[12]。至於溶磷細菌在茶園根圈土壤中之生態研究，資料甚少，故以調查土壤性質、土壤採樣位置、長期磷肥試驗、施肥管理方式及氣候季節與溶磷細菌之關係加以研究，冀能瞭解溶磷細菌在茶園根圈土壤中之分佈及對茶樹生長之關係，並從調查中篩選出具有溶磷能力強又適合茶園土壤中長期存活之溶磷細菌，大量培養繁殖，供茶樹扦插育苗上應用。

材料與方法

一、 茶園土壤中溶磷細菌菌落數

依Paul和Sundara Rao(1971)以平板計數法(Plate count)測數。

二、 土壤理化性質分析

土壤樣本經風乾磨細過2mm篩網供理化分析，質地以比重計法(王，1981)pH(1:1)用玻璃電極測定，有機質用比色法，有效性磷、交換性鉀、鈣、鎂、錳、鋅與鋁用Mehlich No.3法，以ICP測定[14]。

三、 葉片分析

茶葉經70℃熱風乾燥箱乾燥12小時，取出磨細供分析。全氮用Kjeldahl法，P、K、Ca、Mg、Mn、Zn與Al測定，則將葉片放入高溫灰化爐灰化，先以200℃，2小時上升至500℃，6小時，冷後以酸液(300 ml HCl加100 ml HNO_3加去離子水稀釋至1升)溶解，過濾，濾液以ICP測定[7]。

四、 茶園根圈土壤中溶磷細菌之消長：

試驗地點設於鹿谷凍頂工作站及楊梅埔心茶改場二處，茶樹品種爲台茶12號(6年生)採樣日期於1989年每二個月調查一次(即2、4、6、8、10及12月)。採取距茶樹主幹30至50公分處，深度爲0～20公分之根圈土壤，隨機採三點，混勻取約600克土壤。

五、 溶磷細菌在茶樹主幹不同距離及不同深度根圈土壤中之分佈

採樣地點於楊梅埔心茶改場，茶樹品種爲青心大冇(7年生)，採樣日期爲1991年1月7日，採樣方法利用鏟子與移植鏝分別採集距茶樹主幹0～10公分、10～20公分、20～30公分、30～40公分、40～50公分、50～60公分、60～70公分及70～80公分之根圈土壤，深度爲0～15公分。不同深度根圈土壤取樣以距茶樹主幹30至50公分處，以不同深度0～10公分、10～20公分、20～30公分、30～40公分、40～50公分及50～60公分。

六、 不同品種茶樹根圈溶磷細菌之分佈

於1992年5月採取茶改場各品種(青心烏龍、青心大冇、武夷、台茶12、13、14及17號)一心三葉茶菁與根圈土壤供化學成分分析及溶磷細菌測數。

七、 長期磷肥對溶磷細菌之影響

試區設於楊梅埔心茶改場，茶樹品種爲台茶12號(8年生)，試驗採用水泥方形框盆栽(80公分x80公尺x100公分)，五處理、四重複，隨機完全區集設計，肥料處分幼木及成木(1988)用量，成木磷肥分五等級即P2O5爲0、4、8、16及32(克/株)，氮肥N 36(克/株)，鉀肥K2O爲16(克/株)。磷肥用過磷酸鈣、氮肥用尿素、鉀肥用氯化鉀、肥料每年分二次施用即春肥(2月)及秋肥(7月)，土壤採樣日期1990年12月21日。

八、 不同化學肥料量對溶磷細菌之影響

試區在茶改場，以水泥方形框盆栽試驗(80公分ξ80公分ξ100公分)，從1989年定植至1993年爲第4年，品種爲台茶12號。肥料用台肥1號複肥，肥料量分六等級即5、20、60、100、150及200(克/株)，三重複，肥料年分三次施用即春、秋及冬肥。於1993年4月採茶菁一心三葉調查產量及分析養分含量。土壤於採茶後採樣，分析化學性質及溶磷細菌測數。

九、 有機質肥料對溶磷細菌之影響

試區在茶改場凍頂工作站，品種爲青心烏龍(4年生)，肥料處理

(一) 化肥區：採用台肥1號複肥(20-5-10)，全年施用量1250公斤/公頃，年分三次施用即春、夏與秋肥。

(二) 半量化肥加半量有機肥區：台肥1號複肥625公斤/公頃，加雞糞有機堆肥4公噸/公頃及豆粕1.3公噸/公頃。

(三) 有機肥區：完全用雞糞有機堆肥8公噸/公頃，春肥一次施用，另加豆粕2.6公噸/公頃，春與秋肥施用。

1992年12月採土壤樣本，分析理化性質及溶磷細菌測數。

十、 全省主要茶區土壤理化性質與溶磷細菌之關係

1991年9～11月調查全省主要茶區包括10縣48鄉鎮茶園根圈土壤，分析其理化性質及溶磷細菌測數。

十一、 正常與不正常茶園根圈土壤中溶磷細族群之分佈

1991年9月調查全省四地區茶園包括嘉義梅山、南投鹿谷、苗栗大湖及台北坪林，各選一處正常與不正常茶園，採取其土壤分析理化性質及溶磷細菌族群分佈。

十二、 接種溶磷細菌對塑膠袋茶樹扦插苗生長之影響

試驗地點在茶改場簡易溫室，試驗期間自1989年1月扦插至同年9月調查茶苗根、莖與葉乾物重。溶磷細菌菌屬為*Pseudomonas* sp.囊叢枝菌根菌接種劑為*Glomus* sp.孢子、根外菌絲與菌根片段。

(一) 塑膠袋規格：黑色底部旁有2個孔洞，長x寬=17公分x9公分，可裝土約450克。

(二) 處理方法：土壤採自楊梅平鎮系紅壤，分耕種過之舊土及未耕種過之新土二種，土壤經風乾後過2毫米篩網。扦插苗品種為台茶12號及青心烏龍二種，處理方式為土壤(2)x品種(2)x肥料處理 I.對照 II.過磷酸鈣 III.接種VAMF IV.接種PSB V.接種VAMF+PSB共20個處理，每處理重複10次。

(三) 使用方法：土壤裝入塑膠袋中，以扦插枝條插一個穴，將VAMF接種劑1克(約含30個孢子)放入穴中，再將扦插枝條插入土中，後澆水至濕潤止。PSB接種劑於扦插完後以每株1毫升(PSB原液稀釋10倍)施入。過磷酸鈣先與土壤混合，施用量為80 P_2O_5毫克/公斤土壤，再扦插枝條。扦插六個月全部處理皆加棒狀台肥1號有機質肥料，每株加2克，以補充養分。

結果與討論

一、 茶園根圈土壤中溶磷細菌的種類

調查本省茶園根圈土壤中發現大部分皆具有溶解磷酸鈣$Ca_3(PO_4)$的溶磷細菌及少部分具有溶解磷酸鋁($AlPO_4$) 的溶磷細菌，經委託食品工業研究所鑑定菌種為*Pesudomonas* sp及*Bacillus* sp此二種菌屬與其他國所鑑定之常見菌屬相似[18]。

二、 茶園根圈土壤中溶磷細菌之消長

1989年每二個月調查楊梅與鹿谷二地區茶園根圈土壤中溶磷細菌菌落數之分佈(圖一)。2月在楊梅根圈土壤中溶磷細菌菌落數最低為$1.5x10^4$個/克乾土，4月緩慢增加到$8.7x10^4$個/克乾土，至6月達到最高峰為$7.3x10^5$個/克乾土，8月、10月及12月又漸趨減少至$2.9～8.3x10^4$個/克乾土。鹿谷地區亦以2月溶磷細菌菌落數最低為$1.2x10^4$個/克乾土，4月及6月又急速增多，約在$2.2～2.8x10^5$個/克乾土，8月以後又漸降低，此可能4月及6月氣溫高加上降雨量分佈均勻，有利溶磷細菌族群繁殖，7、8至9月則降雨量過多，12月及2月降雨量稀，氣溫又低，皆降低溶磷細菌之繁殖。

三、 不同深度根圈土壤中溶磷細菌之分佈

根圈土壤深度在20～30公分處，溶磷細菌菌落數最多有$1.4x10^5$個/克乾土(圖二)，因該處茶根生長旺盛分佈最多，土壤養分供應充足及通氣良好，故溶磷細菌族群最高。土層在0～10公分及10～20公分處溶磷細菌菌數分佈相似約$5.0x10^4$個/克乾土，40～50公分處則漸減約$1.6x10^4$個/克乾，50～60公分仍有溶磷細菌存在約$4.0x10^3$個/克乾土，顯示該處種植茶樹前有深耕並掩埋綠肥田菁，茶樹根系伸展深度加深且廣，有助溶磷細菌之生存。

四、 茶樹主幹不同距離根圈土壤中溶磷細菌之分佈

以距茶樹主幹20～30公分處溶磷細菌族群最多約$1.0x10^5$個/克乾土，因該處在茶樹冠覆蓋下，土壤水分含量較高，通氣較佳，根系分佈密集，有利溶磷細菌繁殖。而離主幹40～80公分處土壤常受人爲施用肥料與農藥，耕作走動，土壤水分含量較低，根系分佈亦較稀疏，溶磷細菌族群因而降低(圖三)。溶磷細菌菌落數與土壤中pH、有機質及有效性磷亦無明顯相關，顯示土壤化學性質在茶樹主幹不同距離根圈土壤中變化程度甚緩，而溶磷細菌族群變化甚大，因此不易顯現相關，故土壤採樣位置不同，溶磷細菌族群分佈亦異。

五、 根圈與非根圈土壤中溶磷細菌之分佈

採茶改場平鎮系紅壤，茶樹品種爲台茶12號，分根圈土與非根圈土分析pH、有效性磷及溶磷細菌菌落數，結果如表一所示，根圈土pH較非根圈土pH稍低，其原因爲茶樹對氮素吸收主要以氨態氮爲主，茶樹體內細胞爲維持電荷平衡，使根系分泌出各種有機酸[6]，而降低根圈土壤pH值。土壤微生物藉茶根分泌物提供之能源，而加以利用，使得根圈土溶磷細菌數量較非根圈土高出約30倍，土壤有效性磷含量根圈土亦較高。因此土壤中養分的有效性仍由土壤物理、化學和生物特性所主導，尤其根圈pH值、根系分泌物、微生物種類、數量與活性的改變，而決定根圈養分的動態。

表一、根圈與非根圈土壤 pH、有效性磷及溶磷細菌之比較

Table 1. Comparison of pH， P and P-solubilizing bacteria in rhizospheric and non-rhizospheric soils

	pH	P	溶磷細菌
		mg/kg	$x10^3$ cfu/g soil
根 圈 土	4.2	24	276
非根圈土	4.3	18	10

六、 不同品種茶樹與溶磷細菌之關係

不同品種茶樹對養分之吸收受到各種因素之影響，其中台茶12號及青心烏龍葉磷含量似較其他品種爲高[4]，本試驗亦得相同結果如表二。各品種土壤中有效性磷(Mehlich No.3)含量稍低，交換性鉀與鎂則適中，交換性鈣則偏低，溶磷細菌數量在各品種間根圈土中無明顯差異，顯示在相同氣候、土壤及栽培管理下，溶磷細菌族群在不同品種茶樹根圈土中活動力相似無多大改變。

表二、不同品種茶樹葉片成分、土壤成分含量與溶磷細菌之關係

Table 2. The relationship between contents of varieties leaves with number of P-solubilizing bacteria in tea rhizospheric soils

品　　種	葉片成分					土壤成分				溶磷細菌
	N	P	K	Ca	Mg	P	K	Ca	Mg	
	%					mg/kg				$x10^3$ cfu/g soil
青心烏龍	4.23	0.34	1.57	0.41	0.21	26	137	76	18	64
青心大冇	4.05	0.30	1.63	0.42	0.22	35	125	86	16	98
武夷	3.79	0.27	1.49	0.38	0.18	29	120	70	19	83
台茶12號	4.43	0.32	1.56	0.30	0.17	40	137	92	12	146
台茶13號	4.16	0.30	1.53	0.30	0.18	56	109	98	26	85
台茶14號	4.10	0.28	1.50	0.40	0.19	35	111	72	16	120
台茶17號	4.05	0.30	1.70	0.32	0.20	28	100	80	12	60

七、 長期磷肥對溶磷細菌之影響

連續八年不施用磷肥(無磷肥區)，茶樹雖能正常生長，但產量與品質仍較有施磷肥區低且差。經調查無磷肥區土壤中溶磷細菌菌落數約爲$5x10^4$個/克乾土(表三)，少量磷肥區4 P_2O_5(克/株)溶磷細菌落數則達$4.5x10^5$個/克乾土，施用量增加到8 P_2O_5(克/株)溶磷細菌菌落數則逐漸降低，約爲$1.3x10^5$個/克乾土，再增加磷肥16及32 P_2O_5(克/株)，溶磷細菌菌落數則降到4～$8x10^4$個/克乾土，約與無磷區相近。可見施磷肥過量將限制溶磷細菌族群，適量施用磷肥則有利溶磷細菌活動。但目前茶園施用磷肥有過量之虞，加上茶園土壤嚴重酸化，大部分磷素被固定成難溶性，茶樹吸收利用率降低，爲幫助茶樹更能有效利用土壤中大量難溶性磷，似有必要篩選耐磷肥及溶磷能力強之溶磷細菌，並能大量培養，以接種到田間茶園，冀能改善茶樹對磷素之吸收與茶葉品質之提升，此方面仍須再繼續研究。

表三、茶園不同磷肥用量對溶磷細菌族群之影響

Table3.Effects of P application on the population of P-solubilizing bacteria (PSB) in tea plantation.

	P_2O_5 applied(g/plant)				
	0	4	8	16	32
溶磷細菌 $x10^4$ cfu/g soil	5±2*	45±12	13±4	8±3	4±2

八、不同化學肥料量對溶磷細菌之影響

以盆栽試驗不同化學肥料量對茶樹養分含量、土壤pH、有效性磷及溶磷細菌之影響結果如表四，全氮含量隨肥料量增加而顯著提高，磷與鋅含量則無明顯趨勢，鉀以極低肥料量台肥1號複肥5(克/株)爲最低，其餘處理差異不顯著，鈣、鎂、錳與鋁則以極低肥料量5(克/株)爲最高，其餘差異亦不顯著。土壤pH值隨施肥量之增加而降低有效性磷(Mehlich No.3)隨肥料量增加而提高，溶磷細菌數量以20(克/株)處理區最高，菌落數在$3x10^5$個/克乾土與60(克/株)及100(克/株)處理區則無明顯差異，5(克/株)及150(克/株)處理區則降低在$2x10^4$個/克乾土，200(克/株)極高肥料量區則無溶磷細菌菌落出現，可能與該試驗無施用有機質肥料之故有關。以上顯示施用適量化肥有助茶樹養分吸收，並可提供溶磷細菌活動生存，過低及過高化肥則降低其繁殖。

表四、不同化學肥料量對茶樹葉片成分、土壤成分與溶磷細菌之影響

Table 4. Effects of different amounts of chemical fertilizer on tea leaves ingredients，soil elements， and P-solubilizing bacteria

肥料量*	葉片成分								土壤成分		溶磷細菌
	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Al	Zn	pH	P	
克/株	----------%----------					--------ug/g--------				mg/kg	$x10^3$ cfu/g soil
5	3.26c**	0.35ab	1.49b	0.49a	0.24a	920a	427a	63a	4.7a	9c	20b
20	4.45b	0.38a	1.55a	0.27b	0.17b	676b	315b	60a	4.6a	15bc	310a
60	4.55b	0.33b	1.55a	0.30b	0.19b	770a	300b	63a	4.4b	26b	136a
100	4.66b	0.37a	1.60a	0.25b	0.18b	882a	332b	70a	4.4b	32ab	120a
150	4.94a	0.36a	1.56a	0.26b	0.18b	730b	289b	65a	4.2c	37a	25b
200	5.22a	0.34b	1.60a	0.23b	0.17b	584b	226b	63a	4.1c	49a	0c

＊ 施用台肥 1號複肥($N-P_2O_5-K_2O$= 20-5-10)

＊＊ 直行英文字母相同者，表未達5%顯著差異。

九、有機質肥料對土壤化學性質及溶磷細菌之影響

本試區在本場凍頂工作站進行，有機肥區連續施用雞糞有機堆肥及豆粕二年，而無施用化學肥料，致茶菁產量稍爲減少，但與化肥區及各半量化肥與有機肥區產量並無明顯差異。表五顯示土壤pH在有機肥區呈明顯升高，土壤有機質、磷、鉀、鈣與鎂亦明顯增加，溶磷細菌菌落數在$8x10^3$個/克乾土。化肥區土壤pH4.4土壤有機質及其他養分含量充足，溶磷細菌菌落數在$1.6x10^4$個/克乾土。半量化肥與有機肥區，溶磷細菌菌落數較高約在$9.5x10^4$個/克乾土，土壤pH亦上升，其他養分含量亦豐富。以上顯示茶園施肥仍應化肥與有機肥兩者配合調節施用，才能維持茶樹養分需求，確保茶菁產量與品質。若完全施用有機肥時，必須考慮其種類及成分，以免常年固定施用同種類肥料，而改變土壤pH過高，因pH高於6.5以上時，對茶樹生理反應會有不良影響，尤其對養分吸收會不均衡，而導致提早衰老茶菁產量降低。因此適量施用化肥與有機肥可保持土壤肥力，且適合土壤中各種有益微生物活動，如囊叢枝菌根菌[3]與溶磷細菌即是其中一例。

表五、有機質肥料對土壤化學性質及溶磷細菌之影響

Table5.Effects of organic fertilizer on the chemical properties of soils and number of P-solubilizing bacteria in tea rhizospheric soils

處　　理	pH	OM	P	K	Ca	Mg	Mn	Al	Zn	溶磷細菌
		g/kg	----------	----------	----------	mg/kg	----------	----------	----------	$x10^3$ cfu/g soil
化肥	4.4c*	20b	80b	88b	211b	28c	81a	1323a	2a	16b
1/2化肥＋1/2有機肥	5.7b	23a	248a	229a	1062a	88b	96a	1184b	4a	95a
有機肥	6.3a	23a	237a	267a	1375a	127a	121a	1136b	5a	8b

＊ 直行英文字母相同者，表未達5%顯著差異。

十、全省主要茶區土壤理化性質與溶磷細菌之關係

採集全省10縣48鄉鎮茶園根圈土壤，經分析理化性質變異甚大，pH在3.6～5.1，有機質8～56g/kg，有效性磷12～500mg/kg，交換性鉀70～404mg/kg，交換性鈣60～1100mg/kg，交換性鎂10～160mg/kg，交換性錳4～80mg/kg，交換性鋅2～13mg/kg，交換性鋁1008～1765mg/kg，而溶磷細菌菌落數從無到106個/克乾土。經統計分析結果，如表六，土壤中有機質含量與溶磷細菌族群呈顯著正相關，顯示土壤有機質含量豐富，可提供溶磷細菌大量繁殖。其他土壤性質如pH、有效性磷、交換性鉀、鈣、鎂、錳、鋅與鋁，則與溶磷細菌菌落數無明顯相關。本省茶園分佈大部分在山坡地，高溫多雨，土壤有機質消耗較速，加上化學肥料施用過多，有機質肥料補充較少，導致甚多茶園土壤有

機質含量偏低，因此為保持及提高土壤肥力與水資源免受污染，應加強有機質肥料之施用，尤其要使用政府登記有案(註明肥料登記字號)之有機質肥料，以確保有機質肥料之品質。

表六、土壤化學性質與溶磷細菌菌落數之相關

Table 6. The correlation between chemical properties of soils with number of P-solubilizing bacteria in tea rhizospheric soils

	pH	OM	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Al
溶磷細菌菌落數	0.16	0.38*	0.21	0.09	0.18	0.10	-0.14	0.20	-0.11

十一、正常與不正常茶園土壤中溶磷細菌之分佈

選擇四地區正常與不正常茶園，調查其土壤理化性質與溶磷細菌族群分佈結果如表七所示。梅山地區正常茶園(7年生青心烏龍)土壤中溶磷細菌菌落數甚高約在106個/克乾土，土壤中有效性磷57mg/kg，交換性鈣160mg/kg與鎂25mg/kg適中，有機質24g/kg、土壤pH4.5皆適宜茶樹生長，該茶園每年施用化學肥料(台肥1號複肥)約2000公斤，有機質肥料(醱酵堆肥)施用量約10公噸/公頃，土壤管理、施肥方式與茶園管理皆相當勤奮細心，製茶技術亦優秀，故產製茶葉品質與產量皆佳。另一處茶園(6年生青心烏龍)則根系粗短淺發育不良，地上部易開花且不萌芽伸展，茶菁產量極低，經採樣與詢問調查發現該茶園幼木期即施用過多化學肥料與有機質肥料，並分析土壤中交換性鈣含量結果甚豐(Ca 840mg/kg)、溶磷細菌菌落數約在$6.9x10^4$個/克乾土。

鹿谷正常與不正常茶園(皆為10年生青心烏龍)溶磷細菌菌落數皆在4～$6x10^4$個/克乾土，無明顯差異。惟不良茶園土壤pH3.6為極強酸性，加上土壤底層有硬盤排水較不易，且施用肥料又多，皆為限制茶樹生長之重要因子。大湖不正常茶園(12年生台茶12號)可能經年施用化學肥料，致土壤中養分含量甚豐，尤其交換性鈣含量達3920 mg/kg，土壤有機質含量較低(19g/kg)，溶磷細菌菌落數亦低約$3.8x10^4$個/克乾土。正常茶園(10年生台茶12號)則土壤養分適宜，溶磷細菌族群亦較多約$5x10^5$個/克乾土。

坪林正常與不正常茶園溶磷細菌菌落數亦無明顯差異，皆約為$3.0x10^4$個/克乾土。然不正常茶園(15年生青心烏龍)土壤pH3.8呈極強酸性，土壤交換性鈣(20 mg/kg)與鎂(8 mg/kg)偏低，有機質含量亦低(16 g/kg)，顯然該茶園長年僅施用化學肥料，且該區雨量較為豐沛，致土壤偏極強酸性，吸收土壤中養分不平衡，加上茶樹樹齡已高有老化之現象，故產量低。正常茶園(8年生青心烏龍)土壤有機質含量高(39 g/kg)，土壤交換性鈣與鎂含量偏低，使溶磷細菌菌落數較少約在$3.0x10^4$個/克乾土。

由以上四地區茶園可見土壤pH值若低於3.8，交換性鈣低於50mg/kg，或高於1000mg/kg，及土壤排水不良等問題皆影響溶磷細菌族群之活動，因此保持良好茶園必須適時、適量、適法的土壤管理與施肥技術，配合當地氣候條件、栽培方法及茶農親身體驗與勤勉的心力才可達成。如此默默耕耘的土壤有益微生物(如溶磷細菌)才能發揮其所長，助茶樹生長與茶菁品質一臂之力。

表七、正常與不正常茶園土壤性質與溶磷細菌族群比較
Table 7. Population density of P-solubilizing bacteria in normal and abnormal tea garden soils

地點	茶樹生長	質地	pH	OM	P	K	Ca	Mg	溶磷細菌
				g/kg	----------mg/kg----------				$x10^3$ cfu/g soil
梅山	正　常	SL	4.5	24	57	100	160	25	960
	不正常	SL	5.1	20	23	230	840	39	69
鹿谷	正　常	L	4.1	50	112	80	40	9	65
	不正常	L	3.6	24	168	80	30	5	42
大湖	正　常	SCL	4.3	25	234	360	560	149	506
	不正常	SCL	5.0	17	118	200	3920	144	38
坪林	正　常	CL	4.1	39	16	240	50	15	30
	不正常	CL	3.8	16	27	140	20	8	32

十二、 接種溶磷細菌(PSB)對塑膠袋茶樹扦插苗生長之影響

(一) 接種VAMF與PSB對青心烏龍扦插苗生長之影響

新土中施用過磷酸鈣(80 P_2O_5毫克/公斤)將會抑制青心烏龍扦插苗根部之生長，以致地上部發育不良。單獨接種VAMF或PSB，或二者同時接種對根、葉與整株乾物重與未接種對照處理比較無顯著差異，但對莖部乾物重則有增加(表八)。在舊土中磷含量較高，若再施用過磷酸鈣更會抑制扦插枝條之發根，單獨接種VAMF或PSB與對照處理比較，根及葉部乾物重無明顯差異，但對莖部乾物重則有增加。二者同時接種較單獨接種明顯增加根、葉及整株乾物重(表八)，顯示同時接種VAMF與PSB對青心烏龍扦插苗生長有累加促進效果。

一般舊土上之扦插苗生長均較新土上者差，此可能受土壤養分太豐富(尤其鈣含量太高)或其他有害病原菌危害，而使扦插枝條發根受阻。由本試驗得知發根不易又易受病蟲害危害之青心烏龍扦插苗，若同接種VAMF與PSB使造成優勢族群，將有助其生長之功效。

(二) 接種VAMF與PSB對台茶12號扦插苗生長之影響

台茶12號扦插苗在新土上，其根、莖、葉及整株總乾物重，各處理間皆未達顯著差異(表九)。施用過磷酸鈣處理扦插苗生長雖較差，但仍能忍受所施之磷肥量，而照常發根生長，顯示台茶12號耐肥能力較青心烏龍強，因台茶12號扦插枝條較粗且生長勢亦較強。在舊土中因含磷量已高，再施用磷肥將會抑制扦插苗發根，台茶12號亦然。因此塑膠袋扦插育苗時，化學肥料應不要施用，要等到扦插枝條發根且地上部已長出新芽，這時約要6個月才可施用少量的緩效性複肥或有機質肥料。

在舊土中單獨接種VAMF或PSB，或二者同時接種，扦插苗生長皆較未接種對照處理爲優(表九)，單獨接種PSB對扦插枝條發根效果最佳。接種VAMF或PSB對台茶12號扦插苗生長效果在新土與舊土間無明顯差異，但未接種對照處理則仍以新土較佳，示舊土中仍有限制扦插苗生長之因子，此可能非土壤肥力所造成而是有土壤病蟲害存在。本試驗結果在舊土中接種VAMF或PSB，或二者同時接種對台茶12號扦插苗生長皆有改善之效果。

表八、接種囊叢枝菌根菌與溶磷細菌對青心烏龍扦插苗生長之影響
Table 8. Effects of P-solubilizing bacteria(PSB) and VA mycorrhizal fungi (VAMF) inoculation on the growth of tea cuttings of Chin-Hsin-Oolong.(g/plant)

	Treatment	Root	Stem	Leaf	Total
Uncultivated Soil	Control	0.21a*	0.43b	0.26a	0.90ab
	Superphosphate	0.10bc	0.40b	0.15c	0.65c
	VAMF	0.20a	0.49a	0.28a	0.97a
	PSB	0.21a	0.50a	0.27a	0.98a
	VAMF+PSB	0.23a	0.52a	0.30a	1.05a
Cultivated Soil	Control	0.10bc	0.40b	0.21b	0.71bc
	Superphosphate	0.08c	0.40b	0.15c	0.63c
	VAMF	0.14b	0.48a	0.22b	0.84b
	PSB	0.14b	0.47a	0.21b	0.82b
	VAMF+PSB	0.21a	0.50a	0.27a	0.98a

＊Means within columns followed by the same letter are not significantly different (p=0.05) by Duncan's multiple-range test.

表九、接種囊叢枝菌根菌與溶磷細菌對台茶12號扦插苗生長之影響
Table 9. Effects of P-solubilizing bacteria(PSB) and VA mycorrhizal fungi (VAMF) inoculation on the growth of tea cuttings of TTES No.12.(g/plant)

	Treatment	Root	Stem	Leaf	Total
Uncultivated Soil	Control	0.27a*	0.91a	0.32a	1.50a
	Superphosphate	0.21ab	0.90a	0.28ab	1.39ab
	VAMF	0.23a	0.96a	0.34a	1.53a
	PSB	0.32a	1.02a	0.36a	1.70a
	VAMF+PSB	0.24a	1.04a	0.38a	1.66a
Cultivated Soil	Control	0.18b	0.80ab	0.26b	1.24b
	Superphosphate	0.09c	0.63b	0.21b	0.93c
	VAMF	0.22a	0.99a	0.37a	1.58a
	PSB	0.37a	1.02a	0.39a	1.78a
	VAMF+PSB	0.26a	1.00a	0.38a	1.64a

* Means within columns followed by the same letter are not significantly different (p=0.05) by Duncan's multiple-range test.

參考文獻

1. 王新傳 1981 鮑氏土壤機械分析法.作物需肥診斷技術。台灣省農試所特刊 13:27-29。
2. 張鳳屏 1989 茶樹營養診斷與施肥管理。台灣省茶業改良場編。
3. 張鳳屏、楊秋忠 1992 囊叢枝菌根菌在茶園土壤中之生態調查。台灣茶業研究彙報 11:63-77。
4. 張鳳屏 1993 茶園土壤特性對新品種茶樹產量與品質之影響。台灣茶業研究彙報 12:93-102。
5. Gerretsen，F.C. 1948. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. Plant Soil 1:51-81.
6. Jaymann，T.C.，and S. Sivasubramaniam. 1975. Release of bound iron and aluminium from soil by the root exudates of tea (*Camellia sinensis*) plants. J. Sci. Fd. Agric. 26:1985-1898.
7. Jones，J.B.Jr. 1985. Soil testing and plant analysis：Guides to the fertilization of horticultural crop p.1-68.
8. Kabesh，M.O.，M.S. Saber，and M. Yousry. 1975. Effect of phosphate-dissolving bacteria and phosphatic fertilization on the P uptake by pea plants cultivated in calcareous soil. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 6:605-611.
9. Khan，J.A.，and R.M. Bhatnagar. 1977. Studies on solubilization of insoluble phosphates by microorganisms. I. Solubilization of Indian phosphate rocks by *Aspergilius niger*; and *Penicillium*; sp. Fertil. Technol. 14:329-333.

10. Khalafallah，M.A.，M.S.M. Saber，and H.K. Abd-El-Maksoud. 1982. Influence of phosphate-dissolving bacteria on the efficiency of superphosphate in a calcareous soil cultivated with *Vicia faba*. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 145:455-459.

11. Khalafallah，M.A.，M.S.M. Saber，and H.K. Abd-El-Maksoud. 1983. Effect of phosphate-dissolving bacteria on P-uptake by barley plants grown in a salt affected calcareous soil. Z. Pflanzenernahr. Bodenkd. 146:545-550.

12. Konishi，S.，S.Miyamoto，and T. Taki. 1985. Stimulatory effects of aluminium on tea plants grown under low and high phosphorus supply. Soil Sci. Plant Nutr. 31:361-368.

13. Marshall，K.C. 1975. Clay mineralogy in relation to survival of soil bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 13:357-373.

14. Mehlich，A. 1984. Mehlich 3-soil test extractant : modification of Mehlich 2 extractant. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 15(2)1409-1416.

15. Paul，N.B.，and W.V.B. Sundara Rao. 1971. Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes. Plant Soil 35:127-132.

16. Saber，M.S.，A.G. El-Sherif.，and A.Z. Osman. 1975. Studies on microbial fertilizers. III. Effect of phosphate and silicate dissolving bacteria on uptake of phosphorus and potassium from calcareous soil by *Sorghum helepensis*. Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd. 6:613-619.

17. Stotzky，G. 1986. Influence of soil mineral colloids on metabolic processes，growth，adhesion，and ecology of microbes and viruses. In P.M. Huang，and M. Schnitzer (eds.) Interation of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes. Soil Sci. Soc. Am. Madison，Wisc. USA.

18. Subba Rao，N.S. 1982. Biofertilizers in agriculture. Sunil Printers，New Delhi. p.128-136.

19. Taha，S.M.，A.S.Z. Mahmoud，A. Halim El-Damaty，and A.M.Abd El-Hafez. 1969. Activity of phosphate-dissolving bacteria in Egyptian soils. Plant Soil. 31:149-160.

20. Yahya，A.I. and S.K. Al-Azawi. 1989. Occurrence of phosphate-solubilizing bacteria in some Iraqi soils. Plant Soil 117:135-141.

21. Young，C.C. 1990. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of tree species in subtropical-tropical soils. Soil. Sci. Plant Nutr. 36:225-231.

討　論

糖研所李松伍先生問:

採土壤樣品, 如何界定根圈與非根圈土壤?

茶葉改良場助理研究員張鳳屏答:

一般說根圈土壤是指離根系幾公分內的土壤, 我採的根圈土壤差不多在離一公分以內, 因爲茶樹有的根系非常的多, 從根系就可以把它振抖下來我們所要的。

中興大學植病系吳文川教授問:

1. *Bacillus*和*Pseudomonas* spp.應該分開來調查那一屬的細菌比較優勢?
2. *Bacilus*細菌從土壤分離而來的或*Clostridium*, 假若在anaerobically conditions的話很多研究病原細菌的人要多注意這一點!

茶葉改良場助理研究員張鳳屏答:

其實這一方面的菌種鑑定, 是請食科所幫忙我們鑑定。

台大農化系楊盛行教授問:

土壤磷含量對溶磷菌之影響較大, 而土壤有機物對溶磷菌之數目影響較小, 但在PSB與OM之correlation爲0.38, 而與磷之爲0.19如何解釋?

茶葉改良場助理研究員張鳳屏答:

有效性磷測出和溶磷細菌菌落數關係, 因爲磷在一般土壤比較不均勻性, 所以磷在同樣的地點, 變異也非常的大, 我想這個影響的原因可能變異數比較小一點, 這個方面如果說, 溶出來高不高的話在營養方面來講用同位數來追蹤比較合理一點, 對它的吸收比較容易找的出來。

Ecological Survey of Phosphorus-Solubilizing Bacteria and Their Application in Tea Garden Soils

Feng-Ping Chang[(1)] and Chiu-Chung Young[(2)]

[(1)] Taiwan Tea Experiment Station

[(2)] Department of Soil Science，National Chung Hsing University

Abstract

Effect of season，soil sampling position，soil properties and fertilizer on phosphorus-solubilizing bacteria (PSB) population in tea rhizospheric soils were investigated. Based on date of a surface soil sampling(0-20 cm)，the dominant PSB species were *Pseudomonas* sp. and *Bacillus* sp..The PSB population density was higher in spring season than in winter season. This might be due to better soil temperature and moisture which resulted in better root activity. Population of P-solubilizing bacteria sp.(PSB) in rhizospheric soils of tea garden was apparently higher than that of non-rhizospheric soils. pH of rhizospheric soils was lower than that of non-rhizospheric soils，suggesting that the interaction between root-excreted acids and P-solubilizing bacteria may play an important role in the phenomena. Under the same soil management，the PSB number (based on the plate count) in the rhizopheric soils did not vary with varieties. Low or high application of fertilizers resulted in reducing the PSB number in soils. Appropriate application of chemcial and organic fertilizers benefited the increase of PSB population. PSB number was significantly correlated with soil organic matter content. Low soil pH (<3.8)，inappropriate soil Ca (exchangeable，<50 mg/kg or >1，000 mg/kg) and bad soil drainage with over dosage of fertilizers would lower down the PSB number in tea soils.

Effects of Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (VAMF) and Phosphorus-solubilizing bacteria(PSB) being inoculated in cultivated and uncultivated soils on tea cuttings grown in plastic bags were investigated. Uncultivated soils inoculated respectively with VAMF and PSB or both microorganisms had no promoting effects on the growth of tea cuttings of cvs. Chin-Hsin Oolong and TTES No.12. However，in tea cultivated soils inoculation of VAMF or PSB alone obviously enhanced seedling growth of cuttings，cv. TTES No.12. No similar effects were found in cv. Chin-Hsin Oolong. Additive effects on seedling growth of cvs. Chin-Hsin Oolong and TTES No.12. were obtained if both VAMF and PSB were inoculated simultaneously in tea cultivated soils.

Keywords: Phosphorus-solubilizing bacteria，Tea rhizospheric soils，Tea cuttings

臺灣內生菌根資源調查與種源開發

吳繼光
臺灣省農業試驗所農化系

摘　要

我國囊叢枝菌根菌資源，過去鮮有廣汎性的調查研究。二十多年來，經整理國內學者的內生菌根研究報告後，累計有48種囊叢枝菌根菌曾被記錄。這其中大多數並未被詳細描述，更惶論這些菌種的培養與保存了。臺灣省農業試驗所農化系土壤微生物研究室，自民國八十一年起，接受國科會與農委會補助，開始進行我國囊叢枝內生菌根菌資源調查，希望能於五年內對我國內生菌根菌的分布與種類有一概括性的了解，並透過此一調查能有系統地收集和培養這群有益的微生物資源。我們最終的目地在於成立我國第一座囊叢枝內生菌根菌種保存中心。經過近兩年的調查，我國囊叢枝內生菌根菌種類已累計至六十種。其中已發表的世界新種計有*Glomus formosanum, Glomus chimonobambusae, Sclerocystis liquidambaris, S. taiwanensis, Acaulospora taiwania, Entrophospora kentinensis*等。另外亦已完成*Sclerocystis*屬圖鑑的製作，並已刊登於美國Mycotaxon期刊。

囊叢枝內生菌根菌在臺灣的分布，受到土壤條件、耕作制度、地理位置等因素的限制。我國過去較常用的菌種是*Glomus mosseae, Gl. etunicatum,* 和*Gl. fasiculatum*。經過本次初部調查結果建議，除了上述常用的菌種外，在旱作方面如蔥、玉米、花生等，在園藝作物如洋香瓜、菜瓜、苦瓜等，吾人可嘗試使用*Glomus manihotis, Gl. intraradices, Acaulospora elegans, A. scrobiculata*等菌種。至於在澎湖，似可從*Glomus constrictum*著手，因為這是在該區最為優勢的菌種。目前，國外已開發的內生菌根菌肥料其菌種包括*Glomus intraradices*（加拿大），*Gl. manihotis*（南美州，哥倫比亞），*Gl. mosseae, Gl. etunicatum*和*Gl. occultum*（日本）。

關鍵字：繡球菌目、菌根、微生物肥料。

前　言

菌根(Mycorrhiza)一詞係由德國植物學家Albert Bernard Frank[11]所創，意指植物根部與眞菌共生的結合體。菌根大體上可分爲外生(Ectomycorrhiza)與內生菌根(Endomycorrhiza)兩大類[15](表一)。外生菌根的主要特徵在於植物根端外圍有菌絲纏繞而成的菌氈(Hyphal mantle)包裹，菌根的菌絲並不侵入植物細胞內；但在根的橫切面上可看到皮層細胞間有由菌絲組成的哈氏網(Hartig net)的構造。內生菌根的主要特徵在於其菌絲會進入植物細胞內，以菌絲捲(Hyphal coil)或叢枝(Arbuscule)構造等方式與植物細胞有較緊密的接觸。有些菌根因具有內生與外生菌根的構造，而被稱爲內外生菌根(Ectendomycorrhiza)。

所謂囊叢枝內生菌根(vesicular-arbuscular mycorrhiza，簡稱VAM)，係指植物根部受囊叢枝內生菌根菌感染後，菌絲因在根部皮層細胞內形成細小雙叉分支的叢枝體(arbuscule)，以及在菌絲末端或中段膨大形成囊泡(vesicle)而得名。近年來由於並非所有的菌根菌(如*Gigaspora,*

Scutellispora)皆可於根內形成上述兩種構造，因此國外已有不少學者改稱此種菌根為叢枝菌根(Arbuscular mycorrhiza, 簡稱AM)。*Gigaspora*和*Scutellispora*兩屬的菌根菌，其囊泡(Soil-borne vesicle)是產生於根外土壤中。

表一： 菌根的類型
Table 1: Types of mycorrhizae[15]

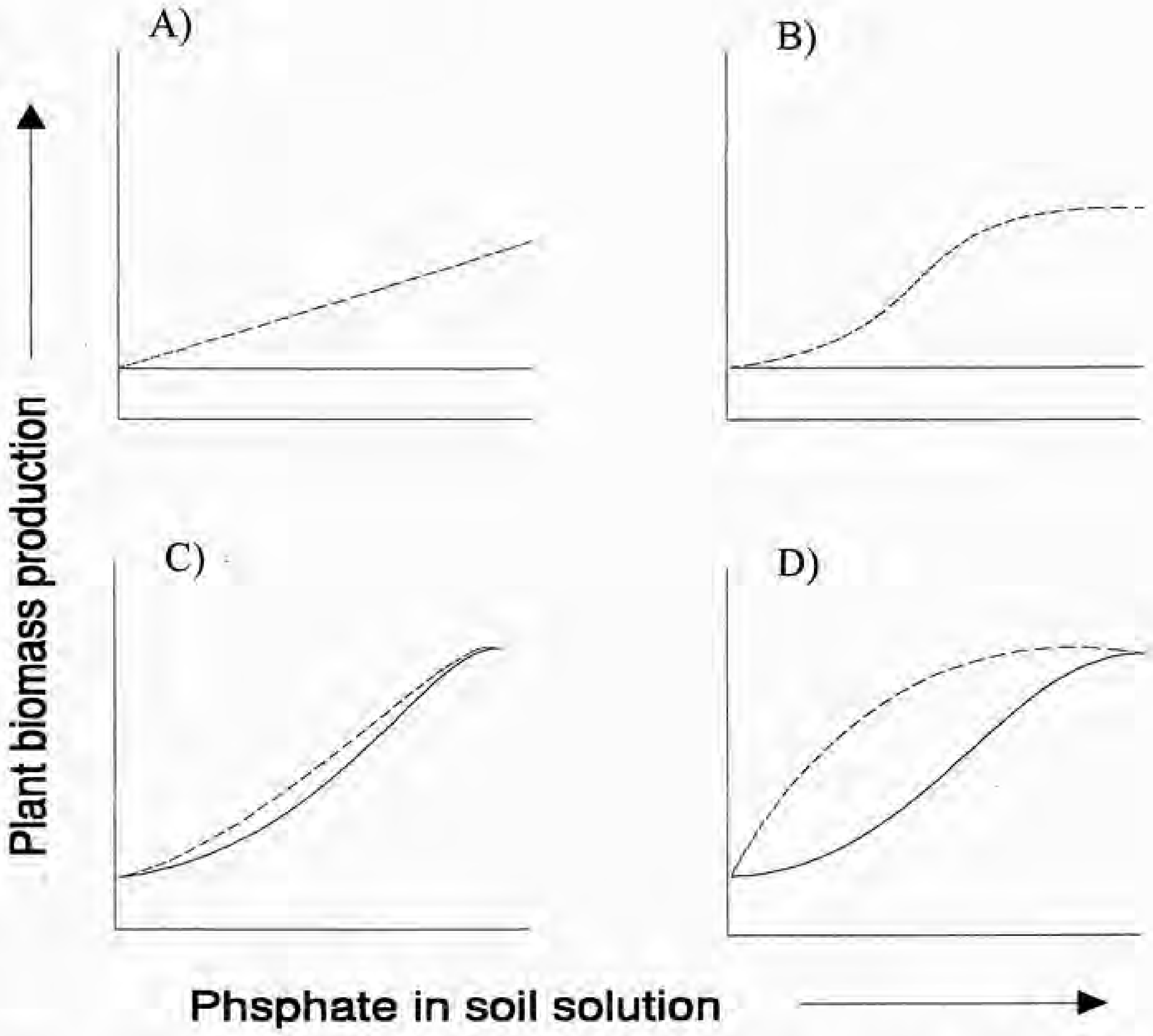
Main Types	Subtypes	Characteristic Structures	Fungal Partners	Host Plants (general)
Ecto-mycorrhiza		Hyphal mantle around root; Hartig net	Basidiomycetes; Ascomycetes; Phycomycetes	Trees, shrubs of Gymnospermae and Angiospermae
Endo-mycorrhiza	Ectendo-mycorrhiza	Hyphal mantle; Hartig net; Hyphal coil	Basidiomycetes; Ascomycetes	Trees; Shrubs of Gymnospermae and Angiospermae
	Arbutoid mycorrhiza	Hyphal mantle; Hartig net; Hyphal coil	Basidiomycetes	Only Ericales
	Monotropoid mycorrhiza	Hyphal mantle; Hartig net; unbranched haustroria	Basidiomycetes	Only Monotropaceae
	Ericoid mycorrhiza	Hyphal coils	Ascomycetes (Basidiomycetes)	Only Ericales
	Orchid mycorrhiza	Hyphal coils	Basidiomycetes	Only Orchidaceae
	Vesicular-arbuscular myorrhiza	Hyphal coils; Arbuscules; Vesicles	Glomales, Zygomycetes	Trees; Shrubs of Gymnospermae and Angiospermae; lower plants

囊叢枝內生菌根菌在分類地位上，是屬於結合菌綱(Zygomycetes)的繡球菌目(Glomales)，下分三個科(Glomaceae, Acaulosporaceae, Gigasporaceae)，總共包含有六個屬(*Glomus, Sclerocystis, Acaulospora, Entrophospora, Gigaspora, Scutellispora*)，一百四十餘種[24,28]。囊叢枝內生菌根菌，可與許多的植物形成菌根。從苔蘚植物[25]，蕨類植物[8]，裸子植物到被子植物[20]。從一般陸生植物，耐鹼植物，水生植物到旱生植物。而根據德國斯爾丁教授[29]的估計，在熱帶植物中，約有13.4 %為非菌根植物，70.9 %為囊叢枝內生菌根植物，15.7 %為其它菌根植

物。在已知非菌根植物中，包括莧科(Amaranthaceae)、十字花科(Cruciferae)、石竹科(Caryophyllaceae)、藜科(Chenopodiaceae)、鴨趾草科(Commelinaceae)、玉蕊科(Lecythidaceae)、馬齒莧科(Portulaceae)、山欖科(Sapotaceae)、蒺藜科(Zygophyllaceae)等。有些植物不但可形成囊叢枝內生菌根，也可與其它眞菌形成外生菌根，例如胡桃科(Juglandiaceae),田麻科(Tiliaceae),楊梅科(Myrtaceae),楊柳科(Salicaceae),殼斗科(Fagaceae),蘇木科(Caesalpiniaceae)[12]。此外，根據傑諾司[19]的定義，菌根植物對菌根菌的依賴度，可分爲兩類：一爲絕對菌根植物(Obligately mycorrhizal plant)，另一爲非絕對菌根植物(facultatively mycorrhizal plant)(圖一)。當植物在非常肥沃的土壤中，若無菌根菌與其共生，則仍然無法正常生長者，稱爲絕對菌根植物。如Cassava, Cowpea, Coffee, Avacado, Mango, *Genipa americana*, *Stylosanthes guianensis*, *Andropogon gayanus* 等。若植物可與菌根菌形成菌根，但在適當肥力的土壤中，雖無菌根菌與之共生，仍能正常生長者，稱之爲非絕對菌根植物。如Bean, Maize, Rice, Sorghum, Cotton, Papaya, Asparagus,*Clitoria fairchildiana, Jacaranda caucana, Tabebuia chrysantha, T. rosea*等(表二)。

表二：植物種類與菌根合成的關係。
Table 2：Plant species in different mycorrhizal association

NON-MYCORRHIZAL PLANTS 非菌根植物	OBLIGATELY MYCORRHIZAL PLANTS 絕對菌根植物	FACULTATIVELY MYCORRHIZAL PLANTS 非絕對菌根植物
Amaranthaceae	**Cassava**	**Bean**
Cruciferae	**Cowpea**	**Maize**
Caryophyllaceae	**Coffee**	**Rice**
Chenopodiaceae	**Avacado**	**Sorghum**
Commelinaceae	**Mango**	**Cotton**
Lecythidaceae	***Genipa americana***	**Papaya**
Portulaceae	***Stylosanthes***	**Asparagus**
Proteaceae	***guianesnsis***	***Clitoria fairchildiana***
Restionaceae	***Andropogon gayanus***	***Jacaranda caucana***
Sapotaceae		***Tabebuia chrysantha***
Zygophyllaceae		***Tabebuia rosea***



圖一：接種菌根菌(虛線)與非接種菌根菌(實線)，對生物質量的影響。A&B：絕對菌根植物 C&D：非絕對菌根植物。A&C：菌根菌對作物生物質量影響較不顯著。B&D：菌根菌對作物生物質量影響較顯著。

Figure 1: Hypothetical biomass production of plants without (unbroken line) and with mycorrhiza (broken line) at increasing soluble P levels[19]. A and B: obligately mycotrophic plants. C and D: Facultatively mycotrophic plants. A and C: Low response host plants to mycorrhizal status. B and D: High response host plants to mycorrhizal status.

臺灣在菌根方面的研究始於民國六十一年。當時美國奧瑞岡州立大學翠琵教授(Dr. J. Trappe)應林業試驗所之邀請來華訪問，並舉辦討論會，介紹菌根學(Mycorrhiza)給我國的研究者。早期臺灣的研究者，似乎對外生菌根較感興趣；而有關囊叢枝內生菌根菌方面的研究，則是由國立師範大學的簡秋源教授[5]首先開始。由於囊叢枝內生菌根菌的根外菌絲(external mycelium)可以延伸至根外八公分甚或更長的距離[29]，所以它能幫助宿主(host plant)廣汎地吸收土壤中的養分特別是磷肥，進而對作物有促進生長的效用。也因爲如此，囊叢枝內生菌根菌被認爲是一種生物肥料。我國的研究者，過去比較集中於研究菌根的生理與溫室內的接種效應。然而近年來，由於囊叢枝內生菌根菌經農業試驗所程永雄分所長的積極推廣，以及農民試用後，對其功效的肯定，如何將囊叢枝內生菌根菌發展成爲田間應用的生物性肥料，已是炙手可熱的研究題材。

我國囊叢枝菌根菌資源，過去鮮有廣汎性的調查研究。但近年來，囊叢枝菌根菌微生物肥料的日益受到重視，爲因應新菌種肥料的開發與田間試驗的需要，全面性的囊叢枝菌根菌資源調查，以尋求適合我國農作物需要的微生物肥料，實刻不容緩。二十多年來，經整理國內學者的內生菌根研究報告後，累計有48種囊叢枝菌根菌曾被記錄[7,16,17,30,36,38,39]。這其中大多數並未被詳細描述，更惶論這些菌種的培養與保存了。臺灣省農業試驗所農化系土壤微生物研究室，自民國八十一年起，接受國科會與農委會補助，開始進行我國囊叢枝內生菌根菌資源調查，希望能於五年內對我國內生菌根菌的分布與種類有一概括性的了解，並透過此一調查能有系統地收集和培養這群有益的微生物資源。我們最終的目地在於成立我國第一座囊叢枝內生菌根菌種保存中心。

材料與方法

一、 採集囊叢枝內生菌根樣品:

選擇北中南東部四個生態保護區(陽明山國家公園，臺大溪頭實驗林場，墾丁國家公園，太魯閣國家公園)，臺灣省農業試驗所輪作試驗田區，以及離島地區(如蘭嶼，綠島，澎湖)等，定期前往採集地被植物根圈土壤五百公克，並記錄地被植物之名稱。農試所的輪作試驗田區包括四種耕作制度(I)水稻連作(II)一期水稻二期玉米的輪作(III)一期玉米二期水稻的輪作(IV)玉米連作每一耕作制度的田區中間有一寬約一公尺的分隔地帶,分隔地帶上長滿雜草如:白花藿香薊，紫花藿香薊，昭和草，野莧，龍葵，多年生花生等。

二、 囊叢枝內生菌根之染色:

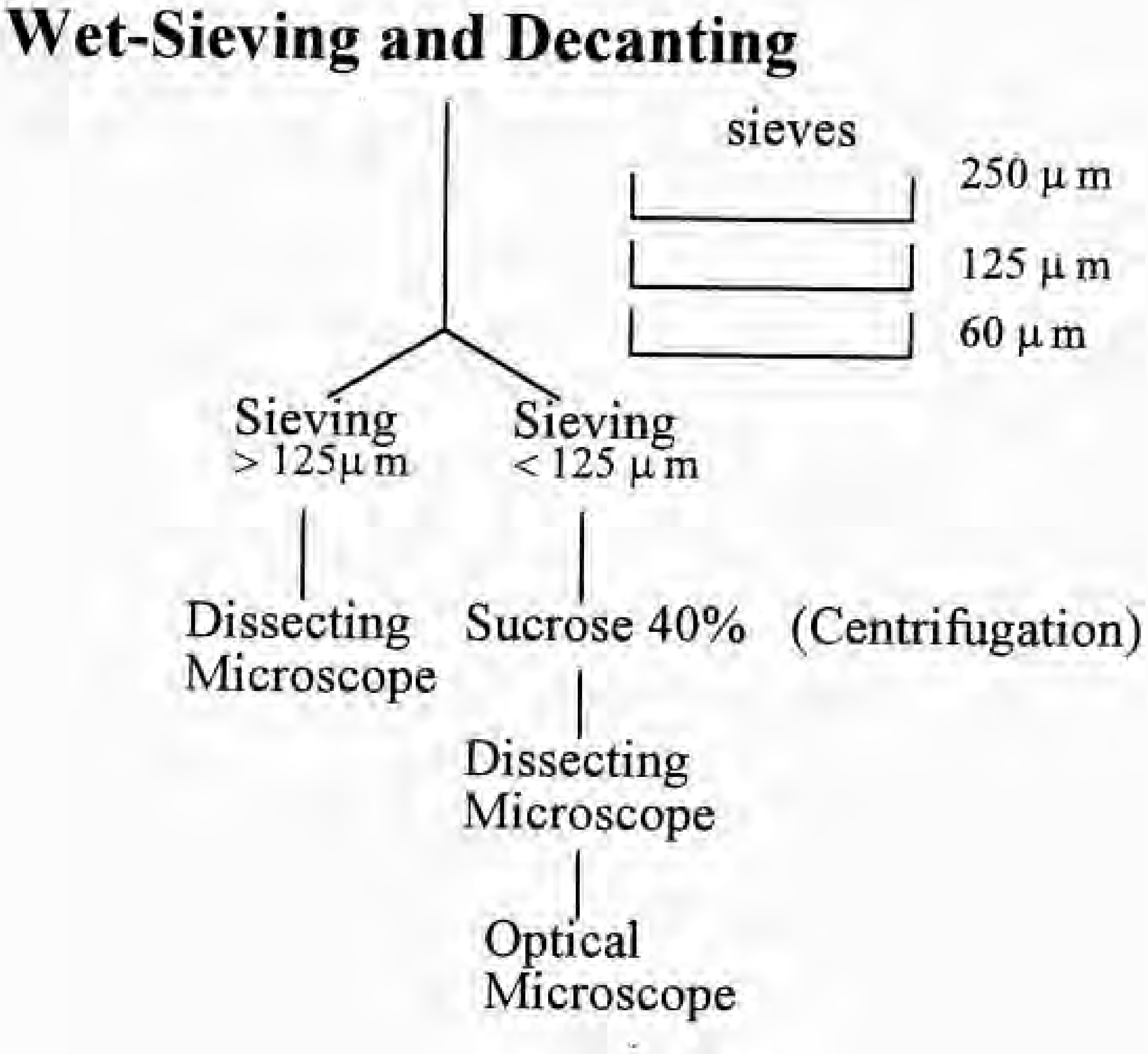
所採集之地被植物根部經洗淨後，以Bevege[3]和Phillips及Haymann[26]的方法染色。

三、 孢子分離與鑑定:

所採集之樣土稱取100克後，以濕篩傾倒法和糖液離心後[9,13]，立體顯微鏡下挑取孢子(圖二)。孢子以Polyvinyl alocohol-lactic acid-glycerol (PVLG)或Hoyer's包埋劑製作成永久片，以利於孢子之鑑定與標本的保存。孢子之鑑定與資料之記錄，採Schenck and Perez[28]所建議的步驟進行。筆者雖曾於一九八七年至一九八八年間在美國佛羅里達大學植病系國際菌根菌種中心(INVAM)擔任研究助理，但爲了增強菌種鑑定的能力，筆者也

於一九九三年前往加拿大農部國家菌類標本館與美國奧瑞岡州立大學植物系標本館研習模式標本(Holotype specimen)。奧瑞岡州立大學標本館收藏有世界上最大多數的模式標本。

ISOLATION OF VAMF SPORES



圖二： 分離內生菌根菌孢子的方法。

Figure 2: Isolation of VAMF spores。

四、 溶磷菌的分離與數量估算:

在每一混合樣品中,稱取適量的土經過適當的稀釋後,以三角玻棒均勻塗抹於MMN(23)平板培養基上,並置於攝氏度的培養箱中培養。經過數天後,觀察菌落溶磷現象並計算菌落數。

五、 囊叢枝內生菌根菌種源繁殖:

利用含有大量孢子的樣土或經糖液純化的孢子液爲接種源。在溫室以河砂爲生長介質，進行盆栽培養。經內生菌根菌感染後的植株，並可移植於氣霧式生長箱(Aeroponic chamber)內進行大量產孢。

結果與討論

一、 臺灣產囊叢枝內生菌根菌：

經過近兩年的調查，我國囊叢枝內生菌根菌種類已累計至六屬六十種，佔全世界已發現總數的43%(表三、圖三、四)。其中已發表的世界新種計有*Glomus formosanum*[38], *Glomus chimonobambusae*[32], *Sclerocystis liquidambaris, S. taiwanensis*[37], *Acaulospora taiwania*[17], *Entrophospora kentinensis*[32]等六種。茲就上述六屬的囊叢枝內生菌根菌調查結果略述於后。

Glomus屬是分布最普遍的囊叢枝內生菌根菌，全世界約有七十多種。我國已有記錄的菌種有二十七種。本屬的特徵在於其孢子具有一(或二或三或多支)接著菌絲(attached hypha)。孢子在形成初期，是呈薄壁囊泡狀(thin-walled vesicle)。當孢子成熟時，囊泡壁逐漸加厚而成厚壁孢子(Chlamydospore)。孢子體與接著菌絲間的交會孔道，可經由孢壁直接加厚而封閉或形成隔板(septum)。孢子大多單獨產生於根圈土壤中，但也有一些種類直接產孢於根內，如*Glomus intraradices*，*Gl. manihotis*等。此外，當孢子形成時聚集成一團狀構造，我們稱之爲孢子果(sporocarp)。孢子果可能只是一鬆散的孢子堆，或是被菌絲組成的包被(peridium)所包圍而成一緊密的構造。孢子發芽的方式，主要是發芽管經由接著菌絲而直接向外延伸。但也有一些種類，如*Glomus scintillans*，*Gl. chimonobambusae*[32]，它們發芽時發芽管是直接穿透孢壁而向外生長。這種發芽方式與*Gigaspora*屬相同。較常出現在本省農田的*Glomus*屬囊叢枝內生菌根菌種，有*Glomus clarum, G. mosseae, G. etunicatum, G. geosporum, G. manihotis, G. occultum,*等(圖五、六、七)。

Sclerocystis屬的內生菌根菌在臺灣也是分布很廣汎的，只可惜本屬至目前爲止，尚無法在盆栽內以砂耕法(pot culture)繁殖成功。全世界目前已被接受的命名有六種，這六種全可在臺灣找到它們的蹤跡。其中兩種*Sclerocystis liquidambaris, Sclerocystis taiwanensis*，是首次在臺灣發現的菌種且這兩種已先後在菲律賓及韓國[10,21]等西太平洋國家被發現。本屬的特徵主要在於其產生圓形，橢圓形或半圓形的孢子果(sporocarp)。孢子果可能是裸露或爲包被所包圍。孢子係由孢子果中心菌絲(plexus hypha)產生，並以輻射狀向外排列成扇形或圓形[14,33,34]。孢子果發芽的方式(以 *Sclerocystis sinuosa*爲例)，主要是在孢子果周圍形成發芽囊泡[1]。在本屬中，以 *Sclerocystis coremioides*和*Sclerocystis sinuosa*分布最廣，前者多分布於農田及柑橘園土壤中而後者則出現在海岸防風林[35]和一般農田土壤中。其它如*Sclerocystis rubiformis, S. liquidambaris*，*S. taiwanensis*，則大多出現在自然林地的土壤中。有關*Sclerocystis*屬觀念的修定及其圖鑑已製作完成，並已刊登於美國Mycotaxon期刊[33,34]。

表三：台灣產繡球菌目菌根菌名錄
Table 3: Inventory for species recorded in Taiwan

Acaulospora 無柄孢子屬
Acaulospora elegans Trappe & Gerdemann *A. foveata* Trappe & Janos *A. gedanensis* Blaszkowski *A. laevis* Gerdemann & Trappe *A. mellea* Spain & Schenck *A. morrowae* Spain & Schenck *A. myriocarpa* Spain, Sieverding & Schenck *A. scrobiculata* Trappe *A. spinosa* Walker & Trappe *A. taiwania* Hu *A. trappei* Ames & Linderman *A. undulata* Sieverding

Entrophospora 內柄孢子屬
Entrophospora columbiana Spain & Schenck *Ent. infrequens* (Hall) Ames & Schneider *Ent. kentinensis* Wu and Liu sp. nov.

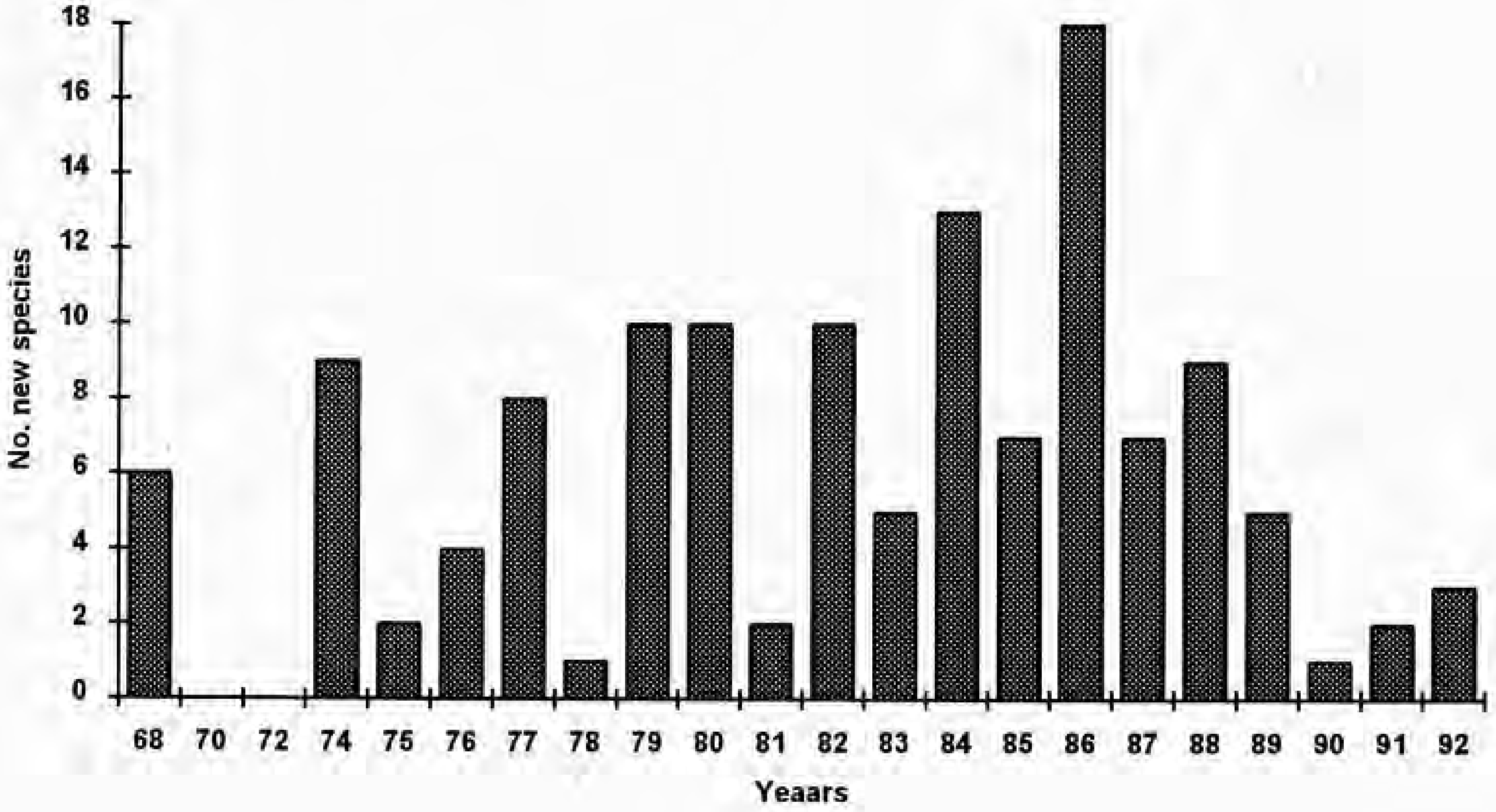
Gigaspora 大孢子屬
Gigaspora gigantea (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe *Gi. decipiens* Hall & Abbott *Gi. magarita* Becker & Hall *Gi. rosea* Nicolson & Schenck *Gi. decipiens* Hall & Abbott

Sclerocystis 硬囊實果屬
Sclerocystis rubiformis Gerdemann & Trappe *Scl. coremioides* Berk. & Broome *Scl. clavispora* Trappe *Scl. sinuosa* Gerdemann & Bakshi emend. Wu *Scl. liquidambaris* Wu & Chen *Scl. taiwanensis* Wu & Chen

表三：台灣產繡球菌目菌根菌名錄(續)
Table 3. Inventory for species recorded in Taiwan (cont'd)

Glomus 繡球孢子屬
Glomus aggregatum Schenck & Smith emend. Koske
Gl. clarum Nicolson & Schenck
Gl. caledonium (Nicol. & Gerd.) Trappe & Gerdemann
Gl. chimonobambusae Wu and Liu sp. nov.
Gl. constrictum Trappe
Gl. diaphanum Morton & Walker
Gl. etunicatum Becker & Gerdemann
Gl. fasiculatum (Thaxter) Gerd. & Trappe emend. Walker & Koske
Gl. formosanum Wu & Chen
Gl. fragile (Berk.& Broome) Trappe & Gerdemann
Gl. geosporum (Nicol. & Gerd.) Walker
Gl. globiferum Koske & Walker
Gl. intraradices Schenck & Smith
Gl. invermaium Hall
Gl. lacteum Rose & Trappe
Gl. leptotichum Schenck & Smith = *A. gerdemannii* Schenck & Nicolson
Gl. macrocarpum Tul. & Tul.
Gl. manihotis Howeler, Sieverding & Schenck
Gl. microaggregatum Koske, Gemma & Olexia
Gl. microcarpum Tul & Tul.
Gl. monosporum Gerdemann & Trappe
Gl. mosseae (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe
Gl. multicaule Gerdemann & Bakshi
Gl. occultum Walker
Gl. pallidum Hall
Gl. pulvinatum (P. Henn.) Trappe & Gerdemann
Gl. radiatum (Thaxter) Trappe & Gerdemann
Gl. scintillans Rose & Trappe
Gl. versiforme (Karsten) Berch
Gl. vesiculiferum (Thaxter) Gerdemann & Trappe

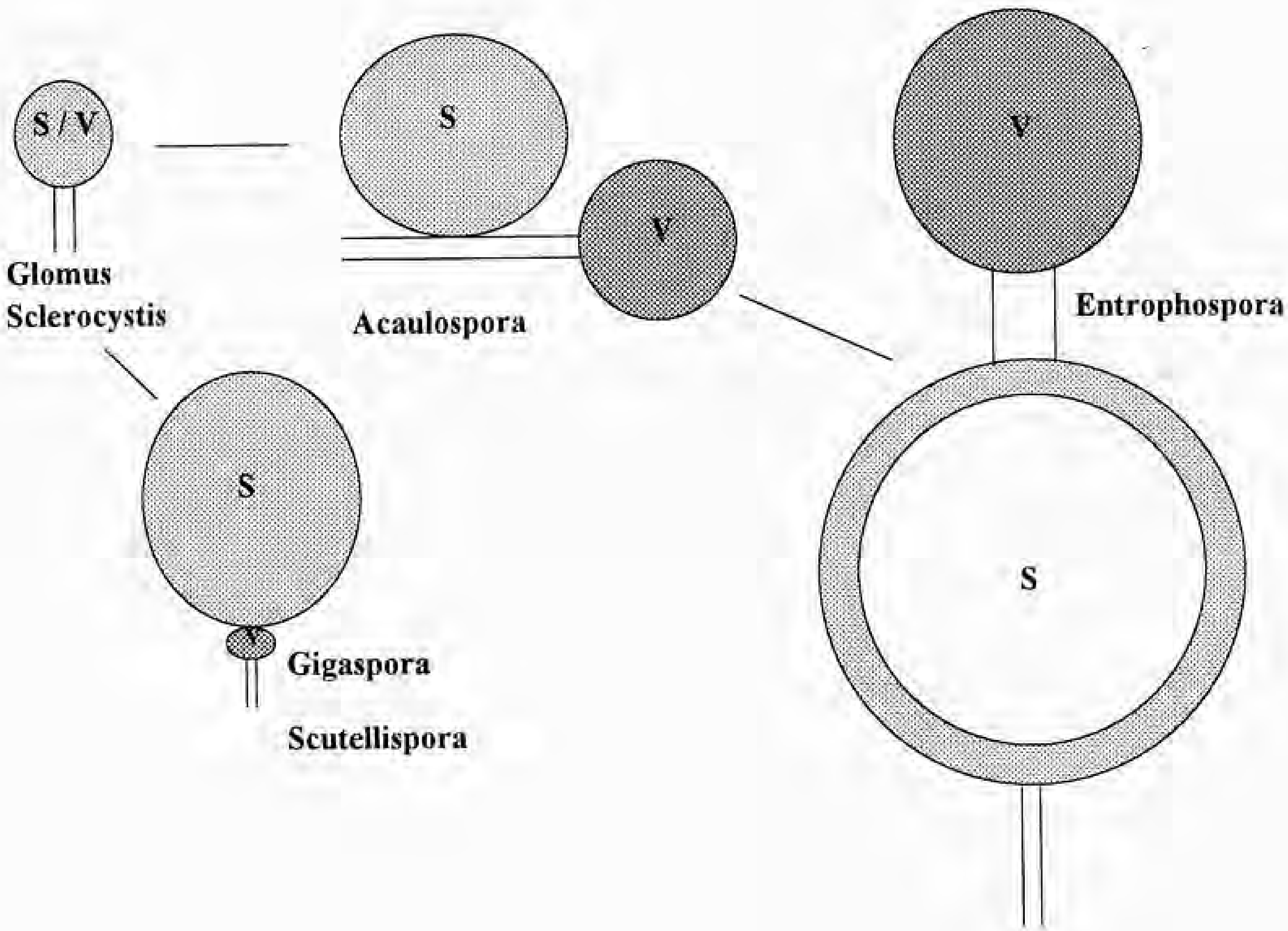
Scutellispora 盾蓋孢子屬
Scutellispora calospora (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders
Scut. coralloidea (Trappe, Gerd. & Ho) Walker & Sanders
Scut. fulgida Koske & Walker
Scut. gilmorei (Trappe & Gerd.) Walker & Sanders
Scut. gregaria (Schenck & Nicol.) Walker & Sanders
Scut. nigra (Redhead) Walker & Sanders
Scut. pellucida (Nicol. & Schenck) Walker & Sanders
Scut. reticulata (Koske, Miller & Walker) Walker & Sanders



Genus	World species	Taiwan species	Diversity %
Acaulospora	28	12 (1)	43
Entrophospora	4	3 (1)	75
Gigaspora	7	4	57
Glomus	73	27 (2)	37
Sclerocystis	6	6 (2)	100
Scutellispora	23	8	35
Total	**141**	**60**	**43**

圖三：囊叢枝內生菌根菌的種數與自一九六八年來，各年發表新種的數量。

Figure 3: Number of new species descriptions of VA mycorrhizal fungi per year since 1968.



圖四： 繡球菌目的產孢類型。

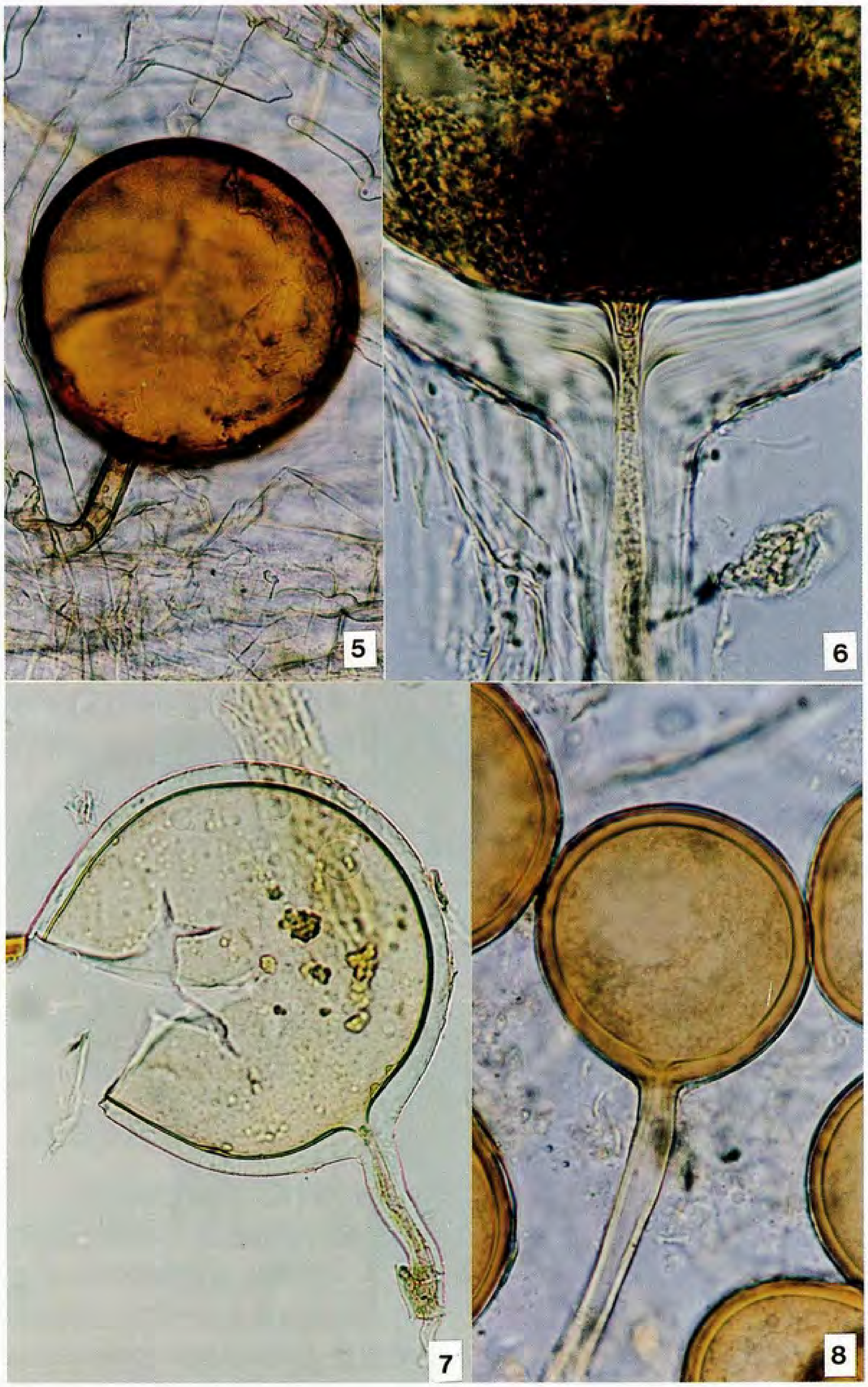
Figure 4: Spore ontogeny in Glomales.

Entrophospora屬的囊叢枝內生菌根菌，與*Acaulospora*屬類似。它們都可形長產孢用的囊泡(sporiferous saccule)。只是本屬的主要特徵是在於其孢子是形成於產孢囊泡的柄內。初期囊泡內會聚集濃密的細胞質，並於囊泡柄內形成一隔板。稍後，囊泡內的細胞質向下移動進入柄內，細胞質經轉化沉積而形成孢子。產孢囊泡和囊泡柄在孢子成熟後會萎縮脫落，因此在孢子外壁上會留下兩個一大一小的圓形痕跡。這是辨識本屬菌的重要依據。本屬的孢子一般較常出現在酸性土壤中，目前全世界只發現四種。其中的一種(*Entrophospora kentinensis*)(圖十一)是首次在臺灣墾丁國家公園發現的。*Entrophospora kentinensis*可出現在微鹼性，含高濃度鹽類的土壤中，且可耐銅污染。目前臺灣省農業試驗所已將*E. kentinensis*，以氣霧式無土栽培方式繁殖成功。

Acaulospora屬的囊叢枝內生菌根菌，產孢方式與*Entrophospora*類似。所不同的是孢子著生於產孢囊泡的柄外。當孢子成熟後，產孢囊泡萎縮脫落並在孢子外壁上留下一個圓形的疤痕，這單一的圓形疤痕是與*Entrophospora*區別的重要依據。*Acaulospora*和*Entrophospora*兩屬的孢子發芽方式皆相當類似，它們在發芽時會先在內層胞壁內形成螺旋形的發芽盾(germ shield)，然後才會穿透孢子長出發芽管。本屬的孢子也是常出現在酸性的土壤中，在本省農地裡，本屬的孢子如*A. elegans, A. scrobiculata*(圖九),*A.laevis,A. foveata*(圖十)等一般可在旱作植物(如花生、甘薯、玉米、茶樹等)的根圈土壤中分離出來，但在水稻田則鮮少出現。

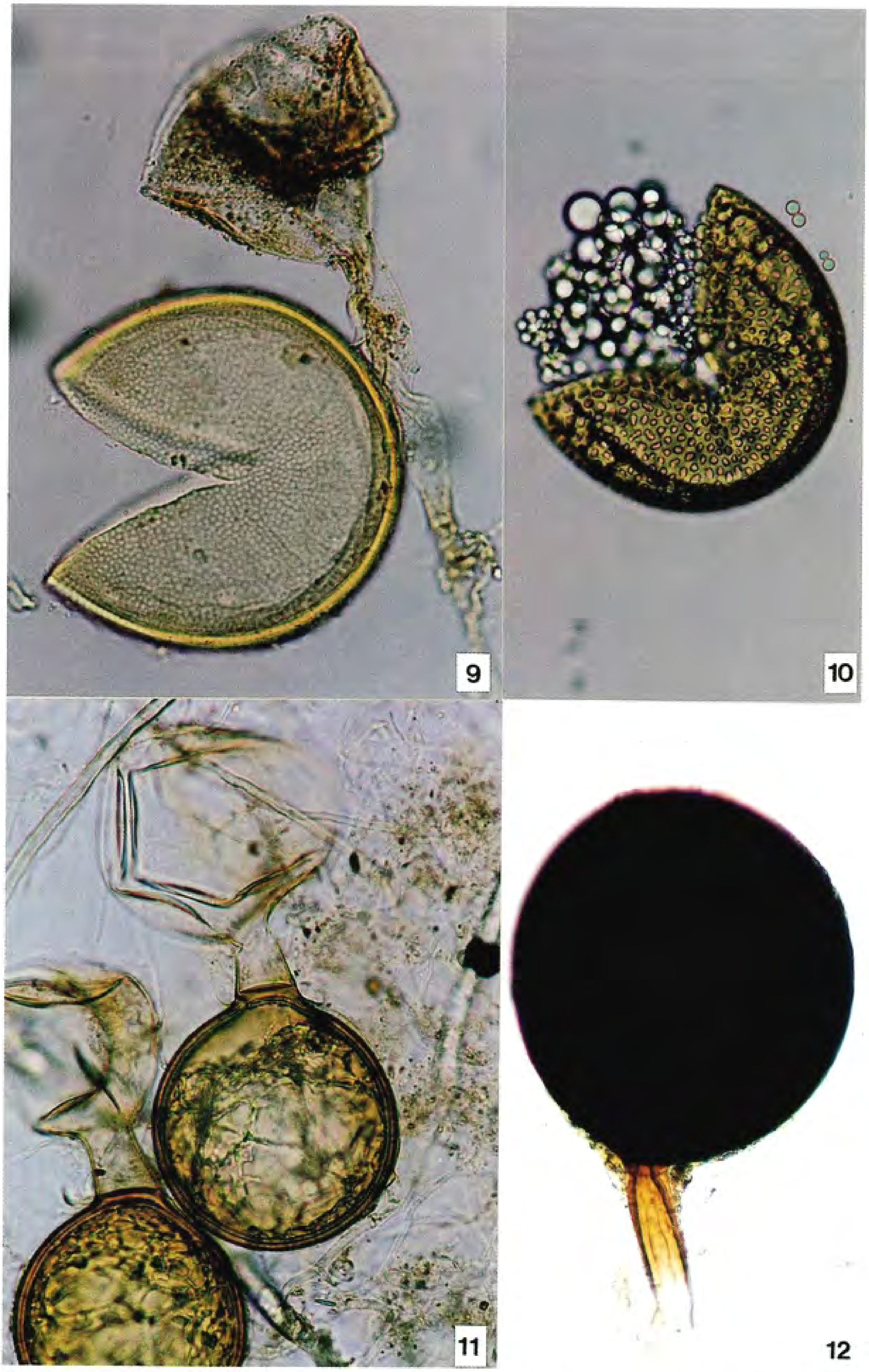
Gigaspora屬的囊叢枝內生菌根菌全世界目前有七種。*Gigaspora*屬和*Scutellispora*屬的產孢方式相似。菌絲在產孢時，先在頂端形成小的囊泡(suspensor-like cell)，然後自囊泡的末端再向外膨大形成厚壁孢子。初期厚壁孢子與小囊泡間有一小管道聯接，以供細胞質自菌絲流入孢子內。當孢子成熟後，由於孢壁的逐漸加厚而最後將此管道封閉。本屬孢子的孢壁構造較簡單，只含有單一壁群(wall group)，內由一至二層孢壁組合而成。當孢子發芽時，發芽管直接穿透胞壁而向外生長。本屬與*Scutellispora*屬的菌絲皆不在根內形成囊泡(intraradical vesicles)，取而代之的是在根域土壤中。我們稱之為土生囊泡(soil-borne vesicles)，或副細胞(auxiliary cells)。本屬的土生囊泡具有乳頭狀或刺狀突起(projections)。本省較常見的菌種有*Gigaspora margarita, Gi. gigantea*等。

Scutellispora屬的囊叢枝內生菌根菌，目前全世界約有二十三種，大多分布於沿海沙灘的植物根圈內，但在一般農田之中特別是旱作田內亦時有發現。本屬與*Gigaspora*屬最大的區別，在於其孢壁的構造與發芽方式。本屬孢子的孢壁經輕微擠壓破裂後，孢壁會分離成二或更多的壁群(wall groups)，其中在內壁群定含有一或多層的薄膜壁(membraneous wall)或皮革壁(coriaceous wall)。這種壁群構造是在*Gigaspora*屬所沒有的。此外，本屬孢子發芽時，會先在最內層壁群中或最內層壁上形成發芽盾(germshield)，然後再產生發芽管向外延伸。本省農作田內較常見的菌種有*Scutellispora calospora*，*Scut. gilmorei*等。



圖五-八：臺灣常見的囊叢枝內生菌根菌。圖五：*Glomus geosporum* 。圖六： *Glomus clarum*。圖七： *Glomus manihotis* 。圖八： *Glomus fasiculatum*。

Figure 5-8: Micrographs of some VAMF in Taiwan. Figure 5: *Glomus geosporum* 。Figure 6: *Glomus clarum*。 Figure 7: *Glomus manihotis* 。Figure 8: *Glomus fasiculatum*。



圖九-十二：臺灣常見的囊叢枝內生菌根菌。圖九：*Acaulospora scrobiculata* 。圖十：*Acaulospora foveata*。圖十一：*Entrophospora kentinensis* 。圖十二：*Glomus constriuctum*。

Figure 9-12: Micrographs of some VAMF in Taiwan. Figure 9: *Acaulospora scrobiculata* 。Figure 10: *Acaulospora foveata*。 Figure 11: *Entrophospora kentinensis* 。Figure 12: *Glomus constriuctum*。

二、 囊叢枝內生菌根菌在臺灣的分布:

a. 土壤酸鹼值:

囊叢枝內生菌根菌的分布，受到土壤酸鹼值的影響。以陽明山國家公園而言，其土壤酸鹼值在二點七至四點四之間，而其中生長在硫磺口附近的五節芒(*Miscanthus floridulus* (Labill.) Warb.)(土壤酸鹼值2.7)，在它的根圈中發現有*Entrophospora columbiana, Acaulospora appendicula, Scutellispora spp.*等嗜酸性菌種;又如在溪頭臺大實驗林區的竹林中(酸鹼值3.11)，發現有*Entrophospora infrequens, Acaulospora scrobiculata*(圖九),*A. spp.*等菌種。以墾丁國家公園，太魯閣國家公園而言，其土壤酸鹼質皆在六點一至八點七之間，上述的嗜酸性土壤的內生菌根菌並未在這兩地區發現，但本地區所發現的*Glomus constrictum*(圖十二)與澎湖所分離的優勢菌種相同。

b. 輪作制度:

在臺灣省農業試驗所水稻連作的#68號田區，其土壤酸鹼值變化較穩定，在5.0到6.0之間。水稻根圈土壤中主要的內生菌根菌種以*Gomus mosseae*爲主(表四)。在近兩年的調查結果顯示，此一菌種與水稻的親合性十分穩定，且產孢高峰期在十二月至四月間(圖十三)。這期間恰逢休耕且稻田內長滿雜草。田間雜草顯然與土壤中囊叢枝內生菌根菌族群的維繫有關。這點與Ilag等人[18]的發現相似。水稻與玉米輪作的田區，在根圈土壤中可發現主要內生菌根菌種爲*Gl. mosseae, Gl. geosporum*和*Gl. manihotis*。其中*Gl. geosporum*和*Gl. manihotis*，主要與玉米有關。這點可從玉米連作田區的根圈土壤中找到這兩種優勢菌種而獲得證實。此外，*Acaulospora elegans*也是另一與旱作有關的重要菌種。除玉米外，這菌種也常常出現在酸性土壤的玫瑰，甘藷或甘蔗的根圈土壤中。從試驗田區的分隔地帶的雜草根域土壤中(圖十四)，發現土壤的酸鹼值(6.2)較所有四種耕作制度田土的酸鹼值爲高，且在第三與第四種耕作制度的分隔地帶的雜草根域中發現*Scutellisporagilmorei*。由以上的調查結果顯示，農作物經長期種植後，會對該農作田內的菌根菌產生選擇性的篩選作用。這點與Schenck與Kinloch[27]所做的結論相同。

c. 溶磷微生物

內生菌根菌的產量與溶磷菌族群數有互爲消長的現象(圖十五、十六)。這種現象,在1993年三月至七月的第一期作生長期間最明顯。在三月初期,內生菌根菌孢子數最多而溶磷菌數相對減少。反之,在七月時溶磷菌逐漸增多。在九月至十一月期間種植第二期作時,在水稻連作區與玉米連作區,也發現溶磷菌數與內生菌根菌,有類似消長的現象。但在一期水稻二期玉米的輪作區內,在九月至十一月期間,溶磷菌數與內生菌根菌數皆有增加的趨勢。而在一期玉米二期水稻的輪作區內,溶磷菌數與內生菌根菌則有相對減少的現象。此種菌根菌與溶磷菌互爲消長的現象，與過去所報導的菌根菌可促進根圈有益微生物(如溶磷菌，游離性固氮菌等)的族群數[2]顯然有所不同。

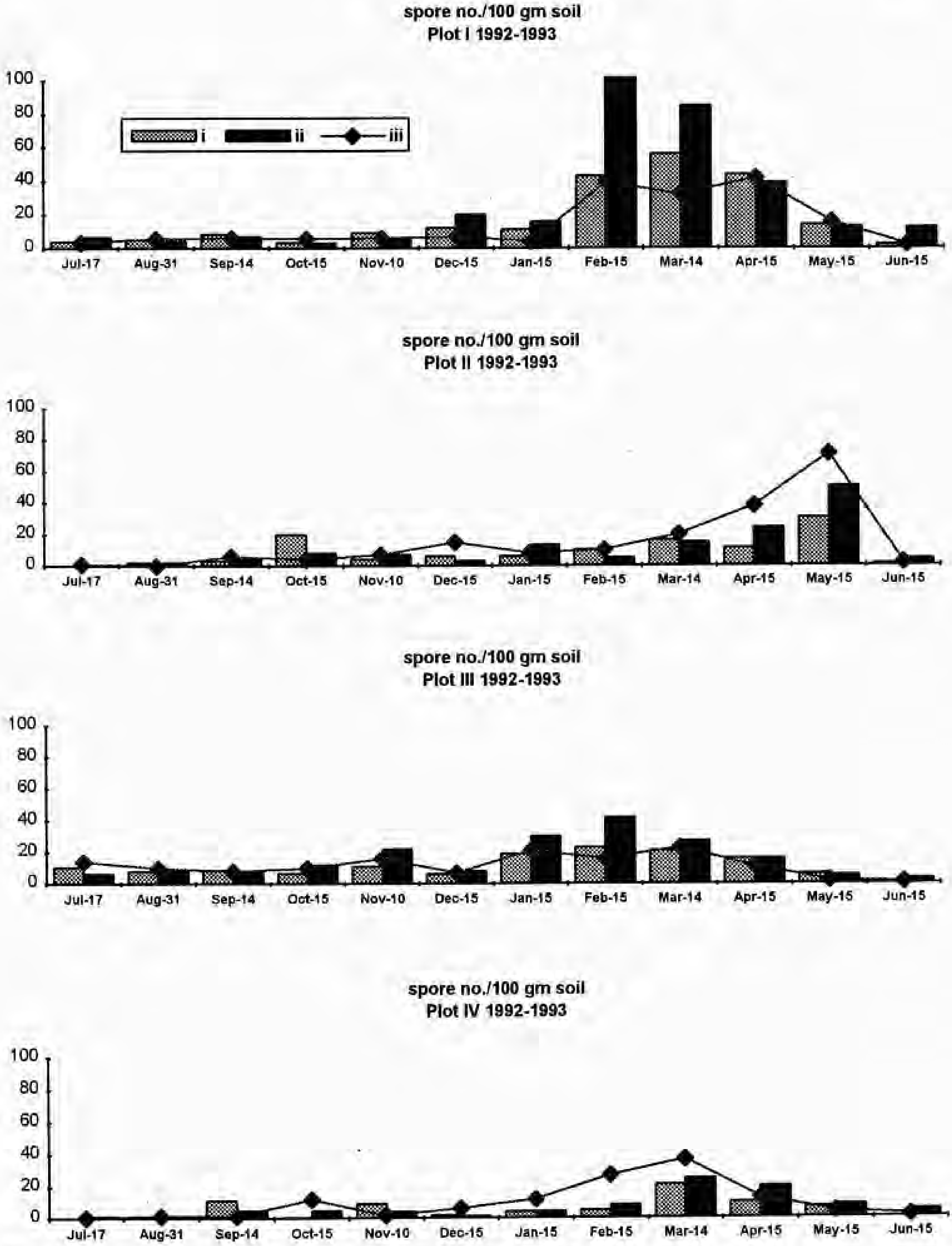
d. 地理位置:

以臺灣東部與西部的內生菌根菌相而言，東部地區的微生物相岐異度(Biodiversity)與西部不同。本所雖然才對東部地區的囊叢枝內生菌根菌相調查沒多久，但在近半年的調查中，卻發現有不少從未被描述的新種。這些微生物資源，實有待吾人的開發與利用。此外，在離島如澎湖的土壤中(酸鹼值7.8-8.2)，其內生菌根菌相與本島一般農田土壤中的菌種略有不同。在馬公與西嶼的調查結果顯示，*Glomus constrictum*(圖十二)與*Sclerocystis sinuosa*是主要的優勢菌種。其中*Sclerocystis sinuosa*是本省離島地區(如蘭嶼，綠島，澎湖等)和沿海地區的防風林(如木麻黃)[35]根圈土壤中的優勢菌種之一，只可惜*Sclerocystis* 屬的菌種，至今世上仍未能培養成功。

表四： 在四種不同耕作制度下內生菌根菌的種類。
Table 4: Species found in different cropping systems

CROPPING SYSTEMS	pH	SPECIES
I Rice-Rice continuous system	5.3-6.07 (5.79)[a] 5.5-6.04 (5.67)[b]	*Glomus mosseae, Gl. geosporum*
II Rice-Corn cropping system	4.33-4.84 (4.6) 4.24-4.89 (4.5)	*Glomus geosporum*
IV Corn-Corn continuous system	3.95-4.4 (4.13) 4.04-5.27 (4.6)	*Glomus geosporum, Gl. manihotis, Acaulospora elegans, A. laevis*
III Corn-Rice cropping system	4.72-4.91 (4.83) 5.03-5.38 (5.19)	*Glomus geosporum, Gl. manihotis, A. elegans, A. laevis*

a: Data of December, 1992
b: Data of February, 1993



圖十三：在四種不同輪作制度下內生菌根菌孢子產量的變化。
Figure 13: Spore dynamics in different cropping systems

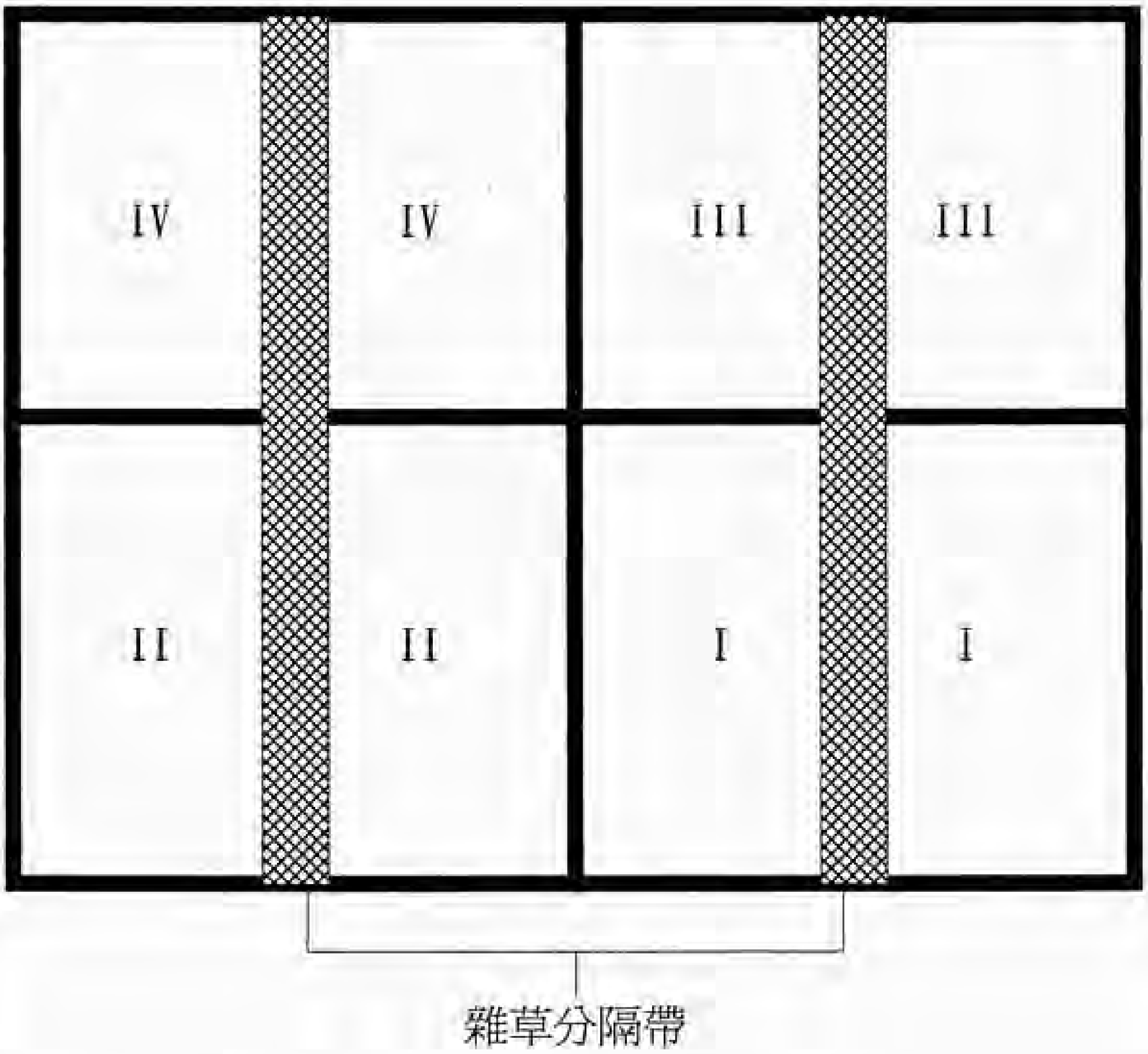
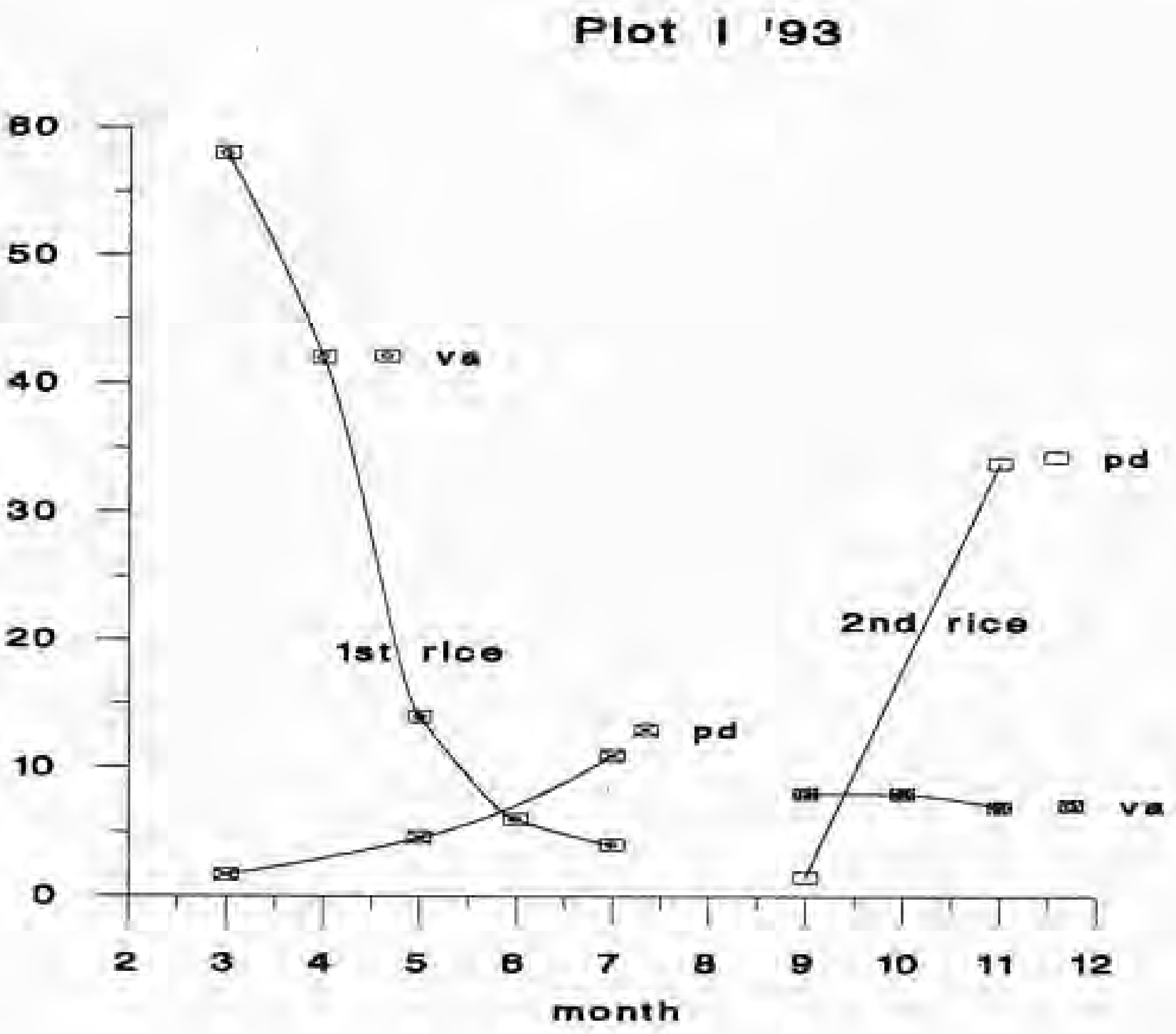
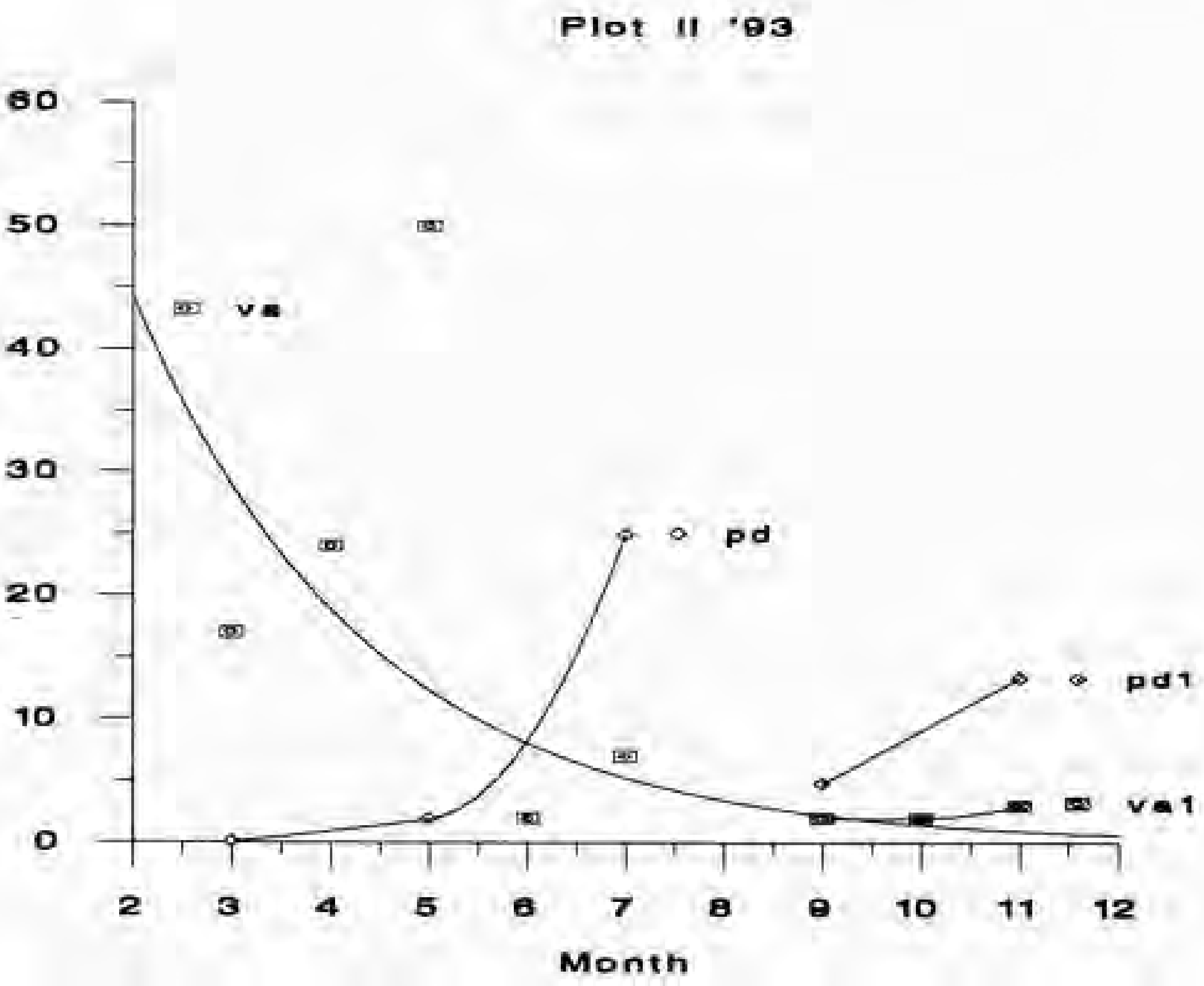


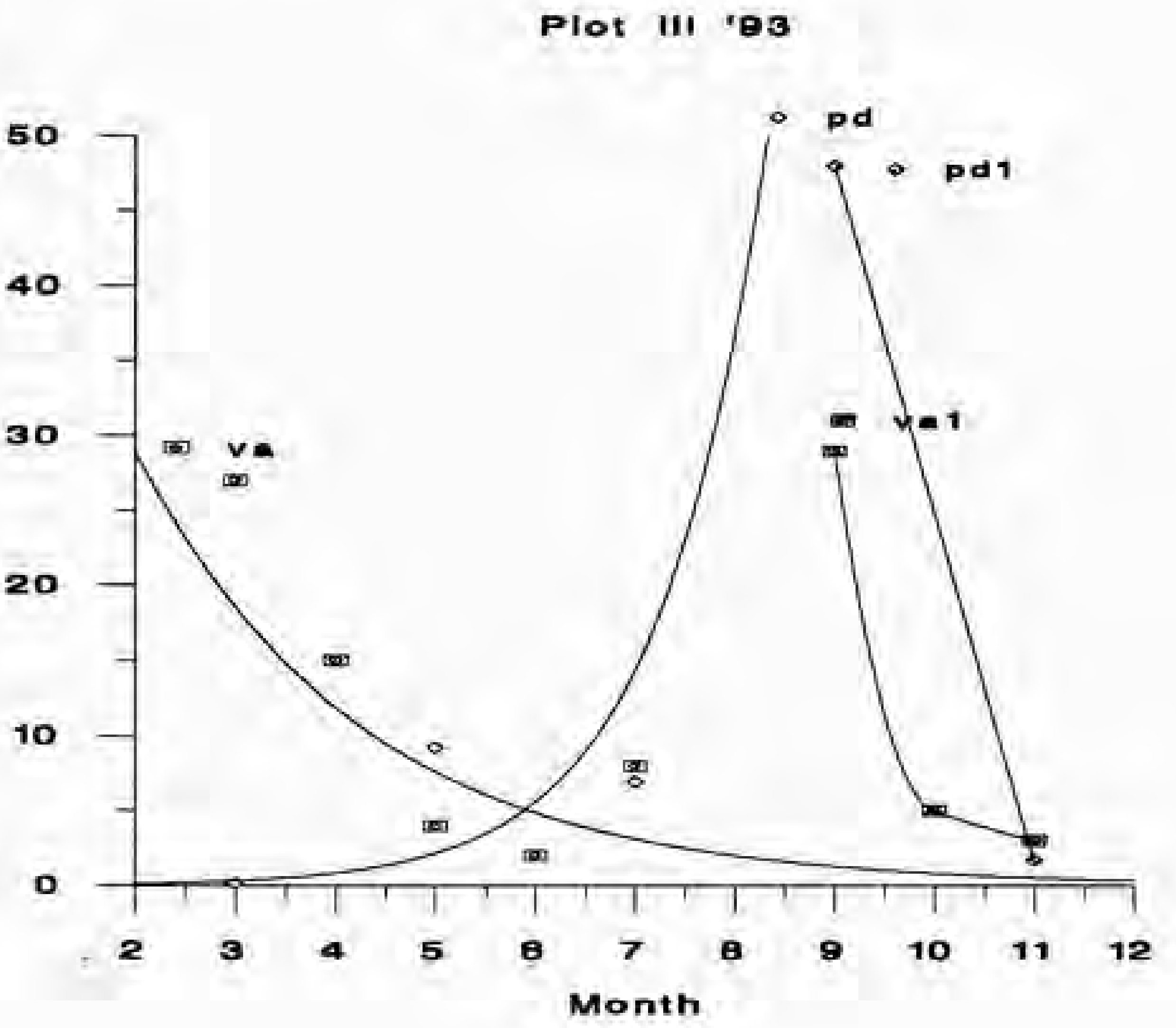
圖 十四: 臺灣省農業試驗所六十八號田區試驗區域劃分概況。
Figure 14: Four cropping systems in #68 field, TARI. A grass zone segregates each plot into two parts.

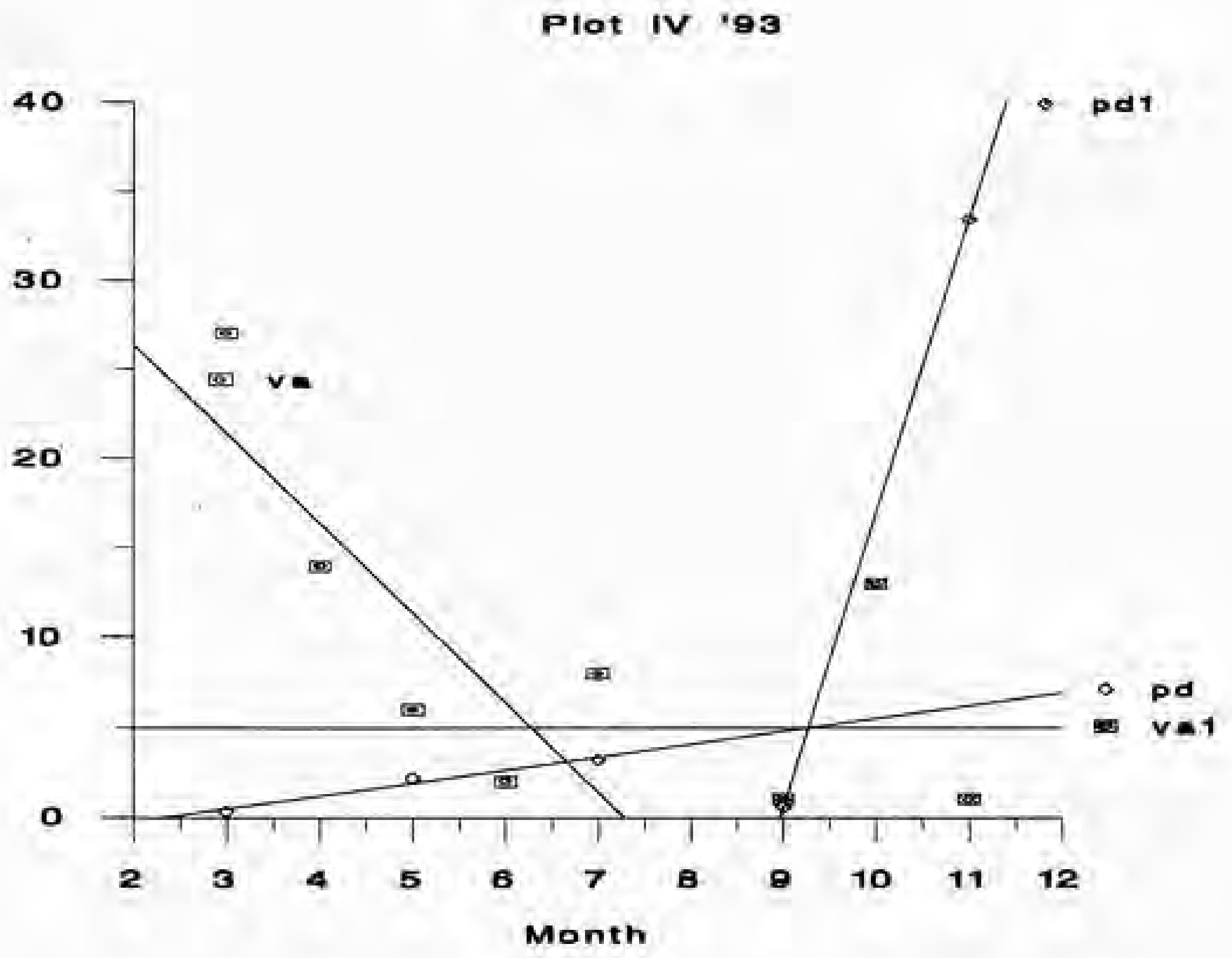




圖十五：囊叢枝內生菌根菌與溶磷微生物在不同耕作制度下的消長情形。第一區爲水稻連作制度。第二區爲一期水稻、二期玉米輪作制度。

Figure 15: Populational succession between VAMF and phosphate-solubilizing microbes. Plot I: rice continuous cropping system. Plot II: 1st rice-2nd corn cropping system.





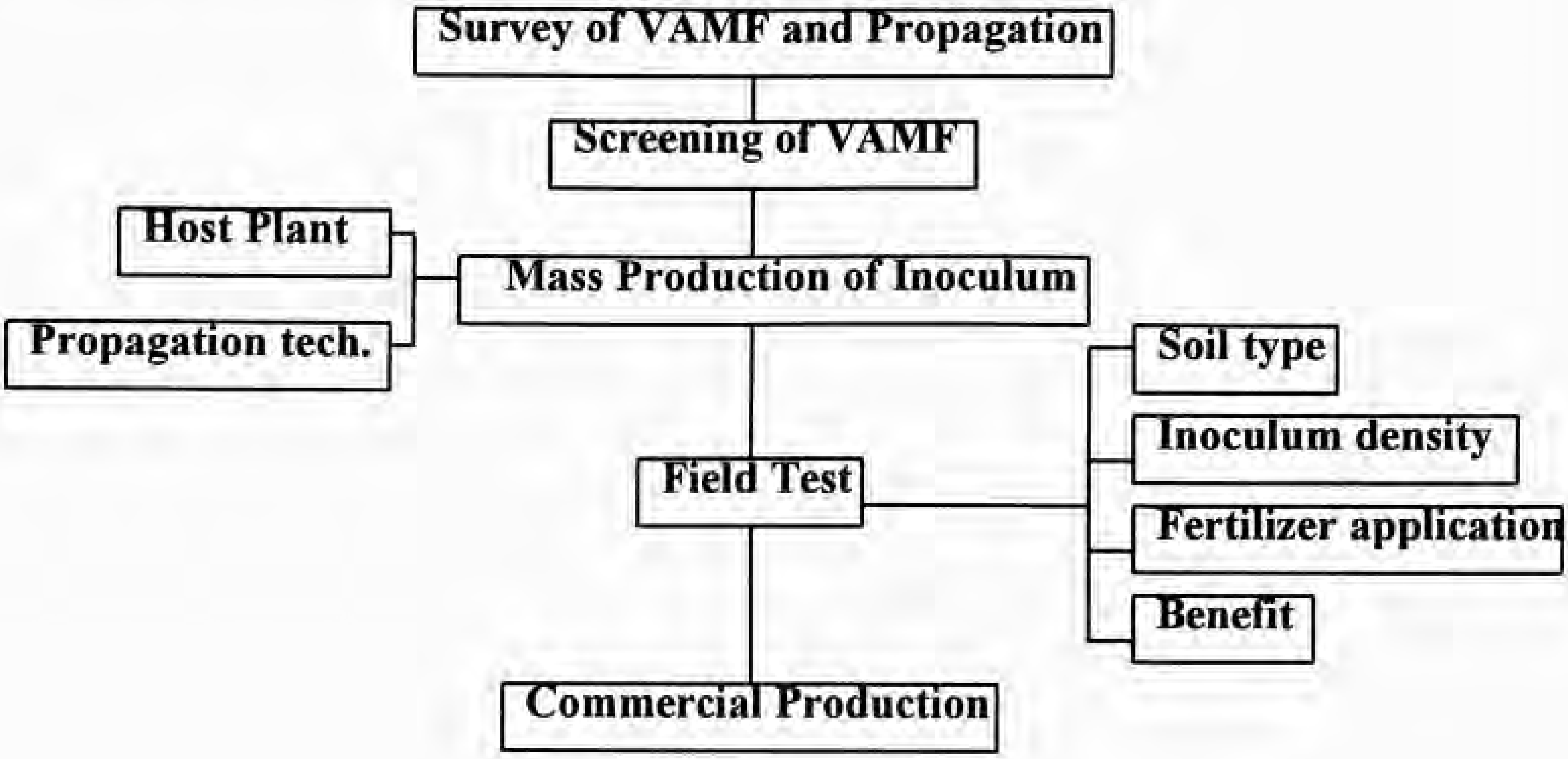
圖十六：囊叢枝內生菌根菌與溶磷微生物在不同耕作制度下的消長情形。第三區爲一期玉米、二期水稻輪作制度。第四區爲玉米連作制度。

Figure 16: Populational succession between VAMF and phosphate-solubilizing microbes. Plot III: 1st corn-2nd rice cropping system. Plot IV: Corn continuous cropping system.

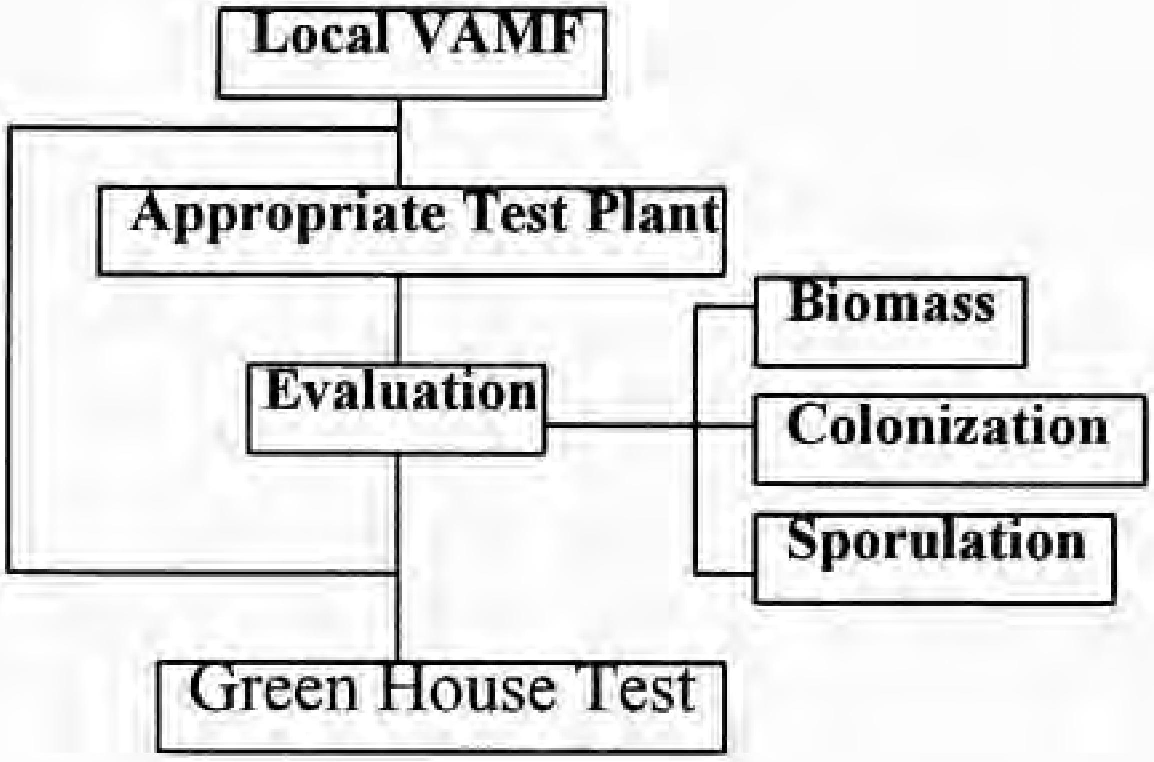
三、 新菌種的使用:

整理我國內生菌根研究人員過去二十年來所使用的菌種，其中最常用的是*Glomus mosseae, Gl. etunicatum,*和*Gl. fasiculatum*(圖八)[4,6,22,31]。我國所使用的菌種種類變化不大的原因很多，主要是因爲接種源不易取得。事實上我國的微生物資源相當豐富，可供試驗用的菌種很多。爲能有效開發這些微生物資源，筆者建議開發此生物性肥料的作業流程如圖十七所示。首先是將我國的囊叢枝內生菌根菌資源做一全盤性的調查，同時逐一將所收集的菌種加以繁殖，並成立種源中心，統一負責此一任務。透過此一調查結果，吾人可將菌種的地理分布，土壤類型，共生之植物種類等，做一系統性的登記與整理。這些資料將提供開發菌根菌爲微生物肥料的重要參考。例如經過本次初部調查結果發現，在中部地區的旱作方面如蔥、玉米、甘藷等的根圈土壤中主要有*Glomus manihotis, Gl. intraradices, Acaulospora elegans*等菌種。在花生根圈中則有*A. scrobiculata, A. laevis*等嗜酸性內生菌根菌種。若是在中部地區擬開發甘藷用內生菌根菌或擬進行甘藷之接種試驗，則吾人可建議使用*Glomus manihotis, Gl. intraradices,*或*Acaulospora elegans*等菌種。針對在某特定地區，某特定作物，所選定的若干菌種，經溫室接種試驗的結果，吾人可從生物質量上的比較來進一步判斷何者是與該特定作物組合的最佳的菌種。菌種一旦選定則可採傳統的沙耕法或氣霧式無土栽培等技術大量繁殖種源，然後再進行田間試驗。在田間試驗階段，可獲得該菌種的有效接種源的數量(inoculum density)以及可節省施用多少化學肥料並賺取多少利潤等資料。若是田間試驗的結果是肯定的，那麼便可進一步將其發展爲某特定作物的推薦性微生物肥料了。

目前，國外已開發的內生菌根菌肥料其菌種包括*Glomus intraradices*(加拿大)，*Gl. manihotis*(南美州，哥倫比亞)，*Gl. mosseae, Gl. etunicatum* 和 *Gl. occultum*(日本)等。這些已開發的內生菌根菌微生物肥料全是*Glomus*屬。可能原因是*Glomus*屬出現在一般田間的比例較高之故。但經本次初步調查的結果顯示*Acaulospora*屬的內生菌根菌出現在旱作根圈的機率也很高。因此，*Acaulospora*屬也是很有發展潛力的對象。雖然臺南亞州蔬菜研究發展中心也曾使用過*Acaulospora, Gigaspora, Scutellispora*等屬的菌種進行玉米、水稻、和大豆等作物的接種試驗，可惜並未獲得較滿意的結果。儘管該試驗結果並不鼓勵使用如*Acaulospora,Gigaspora,Scutellispora,Entrophospora*等屬的菌種，但由於不同菌種與不同作物間皆有其最佳的組合，吾人實不應放棄開發新內生菌根肥料資源的可能。至於在澎湖，似可從*Glomus constrictum*著手，因爲這是在該區最爲優勢的菌種。



SCREENING OF VAMF



圖十七：發展囊叢枝內生菌根菌為生物性肥料的流程。

Figure 17: Procedures in developing VAMF as biofertilizer.

誌　謝

感謝農委會【83-科技-2.6-糧-57-1(2)】，國科會(NSC82-0409-B-055-013; NSC83-0409-B-055-08)以及臺灣省政府農林廳的經費補助，以及陽明山國家公園、太魯閣國家公園、墾丁國家公園、花蓮區農業改良場、高雄區改良場澎湖分場等在採集工作上予以協助，特此致謝。

參考文獻

1. Almeida, R. T. and Schenck, N. C. 1990. A revision of the genus *Sclerocystis* (Glomaceae, Glomales). Mycologia 82:703-714.

2. Bagyaraj, D. J. 1984. Biological interactions with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. ***In***: Powell, C. L. and D. J. Bagyaraj (eds.) VA mycorrhiza, Pp. 131-153, CRC Press, Boca Raton.

3. Bevege, D. I. 1968. A rapid technique for clearing tannins and staining intact roots for etection of mycorrhizas caused by *Endogone* spp. and some records of infection in Australian plants. Trans. Brit. mycol. Soc. 51:808-810.

4. Chen, Y. L. 1981. Effect of endomycorrhizal inoculation on the morphology and growth of asparagus seedlings. Master's thesis, National Taiwan University.

5. Chien, C. Y. Some natural mycorrhizae of gymnosperms and its variation in Taiwan. 中華植物學會第二屆會員大會論文摘要。

6. Chou, H.-F. 1985. Inoculum resproduction of endomycorrhizal fungi. M.S. thesis, National Taiwan University, Taipei, p.118.

7. Chou, W.-N., Yen, C.-H., and Chung H.-H. 1991. Species of *Gigaspora* and *Scutellospora* (Endogonaceae) in Taiwan. Trans. Mycol. Soc. R.O.C. 6:1-17.

8. Cooper, K. M. 1976. A field survey of mycorrhizas in New Zealand ferns. New Zealand J. Bot. 14:169-181.

9. Daniels, B. A. and Skipper, H. D. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of progagules from soil. pp. 20-45 ***In***: Methods and principles of mycorrhizal research, ed. by N. C. Schenck, The American Phytopathological Society, St. Paul.

10. Eom, A.-H., S.-K. Lee, and S.-S. Lee. 1992. Five sporocarpic species of *Glomus* found in Korea. Korean Mycol. 20: 85-94.

11. Frank, A. B. 1885. Uber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernahrung gewisser

12. Bäume durch unterirsische Pilze. Ber. Deut. Bot. Gesell. 3:128-145.

13. Gerdemann, J. W. 1975. Vesicular arbuscular mycorrhizae. ***In***: Torrey, J. C. and D. T. Clarkson (eds.) The development and function of roots. Pp. 575-591, Academic Press, London.

14. Gerdemann, J. W. and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet-sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46:235-244.

15. Gerdemann, J. W. and J. M. Trappe. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Mycologia Memoir No. 5, 76p.

16. Harley, J. L. and S. E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London.

17. Hu, H.-T. 1978. Effects of endomycorrhizal inoculation on the growth of Taiwan red cypress seedlings. Natl. Sci. Counc. Month 6:1064-1077.

18. Hu, H.-T. 1988. Study on the endomycorrhizae of China fir (*Cunnighamia lanceolata*Hooker) and Taiwania (*Taiwania cryptomerioides* Hay.). Q. J. China For. 21:45-72.

19. Ilag, L. L., A. M. Sosales, F. A. Elazegui and T. W. Mew. Changes in the population of infective endomycorrhizal fungi in a rice-based cropping system. Plant and Soil 103:67-73.

20. Janos, D. P. 1988. Mycorrhiza applications in tropical forestry: Are temperate-zone approaches appropriate? ***In***:Ng, F. S. P. (ed.) Trees and Mycorrizha, Pp. 133-188. Forest Research Institute Malaysia, Kuala Lumpur.

21. Janos, D. P. 1984. Methods for vesicular-arbuscualr mycorrhiza research in lowland wet tropics. ***In***: Medina, E., H. A. Mooney and C. Vazquez-Yanes (eds.) Physiological ecology of the Wet Tropics, Pp. 173-187, Tasks for Vegetation Science 12. Junk, The Hague.

22. Koo, Chang-Duck, T.-H. Kim, C.-K. Yi, W.-K. Lee, C.-H. Kang, B.-C. Lee, and S.-K. Lee. 1992. Sporocarp-forming arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus* spp. in forest soils of Korea. Korean Mycol. 20:29-36.

23. Leu, S.-W. 1985. Growth response, enzymatic histochemistry and structural change of asparagus mycorrhiza. M.S. thesis, National Taiwan University, p. 112.

24. Marx, D. H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infection. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. Phytopathology 59: 153-163.

25. Morton, J. B. and Benny, G. L. 1990. Revised classification of arbuscualr mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. Mycotaxon 37:471-491.

26. Parke, J. L. and R. G. Linderman. 1980. Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with the moss *Funaria hygrometrica*. Can. J. Bot. 58:1898-1904.

27. Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. mycol. Soc. 55:158.

28. Schenck, N. C. and R. A. Kinloch. 1980. Incidence of mycorrhizal fungi on six field crops in monoculture on a newly cleared woodland site. Mycologia 72: 445-456.

29. Schenck, N. C. and Perez, Y. (Editors) 1988. Mannual for the identification of VA mycorrhizal fungi. INVAM, Gainesville, Pp. 1-241.

30. Sieverding, E. 1991. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. P. 371, Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammernarbeit (GTZ) GmbH, Germany.

31. Tzean, S. S. and Huang, Y. S. 1980. The occurrence and formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae of citrus and maize. Bot. Bull. Acad. Sinica 21:119-134.

32. Wang, C.-L. 1992. Physiological characteristics of endomycorrhizae Adzuki bean infected with *Glomus* species. Ph.D. dissertation, National Chung Hsing University, p. 121.

33. Wu, C.-G., Y.-S. Liu, Y.-L. Hwung, Y.-P. Wang and C.-C. Chao. 1994. Glomales of Taiwan: V. *Glomus chimonobambusae* and *Entrophospora kentinensis, spp. nov.* Mycotaxon :(in press).

34. Wu, C.-G. 1993a. Glomales of Taiwan: IV. A monograph of *Sclerocystis* (Glomaceae). Mycotaxon 49:327-349.

35. Wu, C.-G. 1993b. Glomales of Taiwan: III. A comparative study of spore ontogeny in *Sclerocystis* (Glomaceae, Glomales). Mycotaxon 47:25-39.

36. Wu, C.-G. 1993c. Observations of *Sclerocystis sinuosa* in Taiwan (Glomaceae, Glomales). Trans. Mycol. Soc. Japan 34 (2):in press

37. Wu, C.-G. 1983. The preliminary studies on the endomycorrhizae of bamboo forest (*Phyllostachys pubscens* Mazel.) at Chi-tou. Master's thesis, National Taiwan University.

38. Wu, C.-G. and Chen, Z. C. 1987. The Endogonaceae of Taiwan II. Two new species of *clerocystis* from Taiwan. Trans. mycol. Soc. R.O.C. 2:73-83.

39. Wu, C.-G. and Chen, Z. C. 1986. The Endogonaceae of Taiwan I. A preliminary investigation on Endogonaceae of bamboo vegetation at Chi-tou areas, Central Taiwan. Taiwania 31:65-88.

40. Young, C. C., Juang, T. C., and Guo, H. Y. 1986. The effects of inoculation with vesicualr-arbuscular mycorrhizal fungi on soybean yield and mineral phophorus utilization in subtropical-tropical soils. Plant and Soil 95:245-253.

General Survey of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Its use in Agriculture

Chi-Guang Wu

Soil Microbiology Lab, Agricultural Chemistry Department, Taiwan Agricultural Research Institute, Wu-Feng, Taichung, Taiwan, R.O.C.

Abstract

In this survey, totally 60 species of Glomalean fungi were recorded from Taiwan. Up to date, six new species, *i.e., Glomus formosanum, Gl. chimonobambusae, Sclerocystis liquidambaris, Scl. taiwanensis, Acaulospora taiwania* had been described. Moreover, the genus concept of *Sclerocystis* was revised based on the material collected during this study and the species description of *Sclerocystis sinuosa* was also modified. Through this investigation, we were convinced that there were wide species diversity and abundant resource of microorganisms especially arbuscular mycorrhizal fungi in Taiwan. These resources could be used in developing our own microbial fertilizers.

In the past, *Glomus etunicatum, Gl. fasiculatum, Gl. mosseae* were used most often in experiments. However, based on the result of this survey, *Gl. manihotis, Gl. intraradices, Acaulospora elegans, A. scrobiculata* were recommended to the farmers growing upland crops such as, green onions, sweet potato, corn, peanut etc. For the growers in offshore islands such as the Pescadores, *Glomus constrictum* was suggested to be inoculated with crops such as sweet potato, melons, since this was the dominant species on island.

Key Words: Glomales, Biofertilizer, Mycorrhizae

內生菌根菌接種源量產技術開發：傳統式砂耕法繁殖體系之建立

程永雄　莊明富
嘉義農業試驗分所

摘　要

內生菌根菌(Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus，VAMF)證實與許多作物根系具有親和性，當VAMF感染作物根部形成內生菌根時，往往能產生有益效應，促進根群發育，增加根部對磷肥等要素之吸收能力，促進植株生長。惟內生菌根菌是一種活物寄生眞菌，目前尚無法在人工培養基上大量繁殖，接種盆栽宿主植物繁殖內生菌根菌接種源是目前唯一可行途徑。除宿主外，土壤(栽培介質)因子、環境因子等亦可影響內生菌根菌之繁殖。本分所建立之內生菌根菌接種源生產體系，分爲三個步驟：(一)以多年生百喜草盆栽保存純種，(二)以盆栽玉米繁殖原種，(三)以大型栽培床之玉米(或營多藤)大量繁殖內生菌根菌，經收集培養土（含宿主根系）風乾裝袋而成接種源。在實際應用上，採用苗期接種，培養洋香瓜內生菌根苗，當內生菌根苗移植於本田，即可將菌種帶到田間，發揮內生菌根之功能，表現其有益效應。

關鍵字：內生菌根菌、盆栽繁殖、量產

前　言

內生菌根菌對作物生長之有益效應已有許多報告[5,10,13,16,19,20]，包括增加作物對土壤養份之吸收，特別是對土壤中溶解性低之磷肥的吸收、增加水份之吸收，增強耐旱力、提高對病原的抵抗力，減輕病害的發生、提高移植苗的存活率等。雖然使用內生菌根菌有這些好處，但是要在田間實際應用時則需克服接種源取得的問題。由於內生菌根菌爲絕對共生菌，必須依賴宿主才能生長繁殖，至目前爲止尚無法以人工培養基進行繁殖。利用盆栽(Pot culture)適當宿主繁殖接種源是較爲常用的方法[14]，至於要大量生產接種源，加州大學Menge博士則設計有一套繁殖體系可供參考[15]。上述採用多年的接種源生產方式，在使用上已有許多缺點存在，如菌根土體積與重量大，在搬運、儲藏及施用上甚爲不便、需有大量的砂土及空間、及易造成菌種混雜與病原之污染等。至今已有許多學者相繼開發不同的繁殖方法，均是爲克服上述的缺點，如薄層養液栽培法(Nutrient film technique, NFT)[6]、氣霧耕繁殖法(Aeroponic culture)[12]、及根組織繁殖法(Root organ culture)[17]等，均可成功產生內生菌根菌孢子，由於都不利用到土壤(除接種初期外)，因此這些方法可統稱爲無土繁殖法。雖然這些方法解決了土壤的問題，但是離大量生產仍有段差距，接種源的保存與施用也是需要時間研究探討的。因此目前仍需借助傳統式接種源的生產方法，進一步加以改良，以達到縮短生產期間及提高菌土中接種源的密度兩項目標。

本分所在推廣內生菌根菌的應用方面，主要以經濟性高且需移植的作物爲主如洋香瓜等[1]，近年來由於有機農業的推展，及農民配合使用的意願亦高下，推廣面積不斷增加，使得接種源的生產成爲一項大問題。由於接種源的生產受到宿主植物的種類、栽培介質、環境等因子

的影響，且不同的內生菌根菌種類，繁殖的條件可能亦不相同，因此為進行田間接種應用，實有賴於穩定的生產體系配合才能克盡其功。

影響內生菌根菌繁殖之因子

一、 宿主植物：

內生菌根菌的種類分屬於六個屬，至目前為止共有一百四十餘種。除少數幾種尚無法以盆栽繁殖成功外，大多數種類均可以盆栽來繁殖。盆栽繁殖所用之宿主大都依研究人員的習慣而有不同，其中最常使用為宿主有蘇丹草(Sudangrass, *Sorghum vulgare* or *S. bicolor* var. *sudanese*)、百喜草(Bahiagrass, *Paspalum notatum*)、玉米(Corn, *Zea mays*)、地中海苜蓿(Subterranean clover, *Trifolium subterraneum*)或大豆(Soybean, *Glycine max*)等。在本省，研究人員採用作為繁殖宿主之植物種類與國外相類似，如百喜草與玉米，此外太陽麻、紅豆、甘薯亦為研究人員所採用。來自不同繁殖宿主之接種源是否會影響其促進作物生長之效果？Simpson等氏曾比較五種熱帶宿主植物所繁殖之*Glomus clarum*菌種，指出其對作物之生長促進效果並不受接種源來源之影響[21]。但是宿主對產孢的影響則有研究顯示，宿主種類對內生菌根菌孢子產生有影響[23]。而宿主種類對孢子產生之影響可能與宿主根系多寡及形成菌根之程度，以及宿主之生長期長短有關。

筆者亦曾比較玉米、督多藤、百喜草、百香果、洋香瓜等五種植物，其對內生菌根菌產孢之影響[1]。結果顯示接種後三個月，以洋香瓜菌根形成率最高，每百毫升砂土之孢子數亦最高，百喜草之菌根形成率是供試宿主中的第三位，但每百毫升之孢子數則是第二僅次於洋香瓜，玉米之菌根形成率雖然最高，但是百毫升砂土之孢子數則是第三位，而百香果與督多藤在菌根形成率與孢子數上則較差，此種結果可能與宿主生長速度有關。因為由盆栽植株生長情形觀察，玉米、洋香瓜、百喜草是生長較快速之植物，因此當內生菌根菌感染後，可隨著宿主快速生長繁殖。因此要在短時間大量繁殖接種源須考慮宿主的生長速度及根系的多寡，但是如果依保存菌種的觀點，選擇多年生的宿主可能是較方便，且如多年生的百喜草分株移植相當方便，在繁殖原種時可省去重新接種之步驟。

二、 土壤(栽培介質)因子：

土壤因子對內生菌根菌之影響包括：孢子發芽、菌根形成、產孢、孢子存活等。這些因子有土壤質地(Soil texture)、酸鹼值(pH)、水份含量、有機質(Organic matters)、肥份(Fertility)、土壤微生物(Soil microorganisms)等[3,4,8,11,18,22,24,25]。由於研究報告較缺乏加上土壤因子相當複雜，因此至今尚無有系統的研究。但是可以推測的是，從內生菌根菌孢子發芽開始至其產孢間是一系列的過程，只要其中一個步驟受影響，都會影響最終之產孢數量。

一般認為土壤肥份對內生菌根菌的繁殖是較為不利的，因此在本分所是選擇低肥份之河砂(西螺),作為栽培介質種植宿主植物繁殖內生菌根菌接種源。河砂除肥份較低外，

其質地屬於砂質土，在以篩網傾注法[7]洗出孢子時亦較容易觀察。但是以河砂為介質時，必須施用肥料提供繁殖宿主之養份需求。施用一般化學肥料於砂質土，則有肥份容易流失的缺點，目前有一種緩效性肥料(Controlled-release fertilizer)可供使用，Coltman等氏[2]的報告中，施用緩效性肥料較Modified 強生營養液產生的孢子為多。除施用化學肥料外，加入適當的有機質，亦有助於一些菌種的產孢。但是一般商品化有機質常在其中添加一些化學肥料，可能造成不利產孢的結果。除了以河砂為栽培基質外，中興大學楊秋忠教授也使用石英砂作為基質繁殖內生菌根菌，但是不論是砂土或石英砂，重量大是主要缺點，在加拿大目前有利用Polymeric hydrogel為基質生產內生菌根菌接種源，並使用於微體繁殖草莓(Micropropagated strawberry)之栽培。另外一種方式是可將砂土繁殖之菌種以篩網傾注法洗出後，再以擴張性黏土(Expandable clay)為基質吸附孢子，即可減輕重量，此種方式在以氣霧耕繁殖之接種源，亦是可以使用，且可省去洗出孢子的步驟。

三、 環境因子

環境因子中溫度、光照[9]均可影響內生菌根菌的生長發育。由於內生菌根菌與宿主植物是一種共生狀態，必需由宿主提供養份才能生長發育，有適宜宿主生長的環境條件，才能使宿主製造足夠的有機養份提供內生菌根菌生長所需，因此影響宿主生長的環境因子同樣對內生菌根菌的生長也有影響。

在本分所生產之內生菌根菌接種源是以苗床栽培(Nursery culture)大量生產接種源，方式是以空心磚圍成的小區域，置入砂土後再種植已接種內生菌根菌之玉米，繁殖時間採適宜種植玉米之春、秋兩季。除了採用玉米作為生產接種源之宿主植物外，另外亦利用營多藤(Beggarlice)為宿主植物，但是營多藤在本省冬季時生長緩慢，夏季時較適宜作為繁殖宿主，百喜草的情形亦同，但由於後兩種植物為多年生，可作為原原種或原種菌根菌之繁殖宿主。

營多藤屬於豆科植物，其根系可形成根瘤，因此如果同時接種優良的內生菌根菌及固氮根瘤菌，即可同時繁殖此兩種有益微生物，應用於豆科作物之接種。

內生菌根菌接種源繁殖體系

本分所推廣應用內生菌根菌於洋香瓜之栽培始於1986年，之前亦曾試過玉米及大豆之田間接種試驗。目前在洋香瓜的推廣應用面積已達300公頃(1993-1994)，如此龐大的面積所需的菌土量估計約有13.5噸，此一數據是以苗期接種用量為基礎，如果不是苗期接種而是於洋香瓜直播時再接種，菌土量約是苗期用量的2至3倍。繁殖之菌土除了供推廣應用所需，平時亦有農民直接至本分所索取菌土，因此為充份供應內生菌根菌菌土，必須利用現有的空間作充份的利用。如果推廣的菌種有數種，則將造成人力、空間、時間分配的大問題。目前農業試驗所吳繼光博士正在蒐集台灣內生菌根菌菌種，期望建立囊叢枝內生菌根菌之種源中心，亦即是生產菌種之上游工廠，但是中、下游等生產原種及接種源之工作同樣也很重要，否則徒有優良菌種卻無法提供田間應用，因此此一工作有賴團隊合作才能事半功倍。

目前本分所建立之接種源生產體系，是採用盆栽百喜草作爲生產原原種或原種內生菌根菌，或以大型盆缽種植玉米生產原種內生菌根菌。所生產的原原種內生菌根菌保存於實驗室中，假若原種有混雜時，再取出重新繁殖或於保存一年後重新更新繁殖。田間推廣應用所需的接種源則取原種內生菌根菌菌土，接種玉米或營多藤，植株再移植於以空心磚圍成之大型栽培床大量繁殖。當玉米開花結果後任其自然乾枯，再割去地上部，所有土壤則搬運到遮陰蓬下自然陰乾，再裝袋(4.5kg/袋)。封袋後放置在大型冷藏庫中(4-5℃)保存。由於推廣面積不斷增加，爲減輕本分所人力、空間上之不足，目前正將部份接種源生產工作轉移苗栗縣後龍鎮一位農友處，該處生產之接種源則提供北部地區推廣所需，而本分所則負責提供中南部地區所需之接種源。

過去以砂土生產之接種源，在人工接種上尚未有問題出現，但是育苗工作在未來可能逐漸改採自動化方式進行，以因應農村勞力不足現象，如何使菌土適合在機器上自動填加，是未來研究的方向。

結　論

近年來在環保意識提昇下，減少化學肥料及化學藥劑的使用已逐漸形成一種趨勢。有機農業的觀念即在這種趨勢下順勢推展。但是要施肥習慣已成定型的農民改變其習慣，可能不是在短時間內可以達到的，其中一個原因即是化學肥料相當便宜，另一個原因是如果教農民少施化學肥料，會令其有作物少施肥料怎能長得好的疑慮？因此一方面教農民少施肥料的同時，也須教導他們如何配合使用微生物肥料，如固氮根瘤菌、溶磷菌、菌根菌等，當農民瞭解施少量肥料，卻又不會影響作物生長時，才能建立農民少施化學肥料的信心。

以內生菌根菌的推廣應用而言，除了菌種的來源外，接種源的大量繁殖即是一項龐大工作，因爲內生菌根菌不像固氮根瘤菌可在人工培養基上大量繁殖，也無法在短時間內即能生產大量接種源，因此推展內生菌根菌的使用，需要團隊合作，從菌種蒐集、分離純化到大量培養有待分工合作、相互配合，才能事半功倍。

本分所在推展內生菌根菌應用於洋香瓜生產上已有多年，顯示內生菌根菌可促進洋香瓜根群發育、促進植株生長並可提早植株開花結果（圖一）。供應此一示範推廣所用之接種源，即是依據如下之接種源大量繁殖體系，（一）以多年生百喜草盆栽保存純化菌種，（二）以玉米或百喜草盆栽繁殖原種，（三）再以大型栽培床種植玉米或營多藤大量繁殖接種源，提供田間300公頃洋香瓜接種所需。但由於人力、空間的不足，目前正將部份接種源大量繁殖的工作轉移農民，因爲內生菌根菌的種類有很多，許多具有應用潛力的菌種尚待開發，因此本分所將致力於內生菌根菌原種的繁殖，菌種除由農業試驗所提供外，也將自行分離純化培養，未來可提供有興趣的單位研究之需。

圖一、內生菌根菌對洋香瓜生長及生產之影響
1. 簡易網室內培育之內生菌根洋香瓜苗 2. 內生菌根洋香瓜苗根系生長旺盛
3. 內生菌根洋香瓜(右)生長較未接種之對照株(左)高 4. 內生菌根洋香瓜結果情形

參考文獻

1. 程永雄、莊明富、杜金池 1993 內生菌根菌*Glomus clarum*應用在洋香瓜生產上之效益評估。中華農業研究 42：74-84。

2. Coltman, R. R., D. R. Waterer, and R. S. Huang.1988. A simple method for production of *Glomus aggregatum* inoculum using controlled-release fertilizer. HortScience 23:213-215.

3. Daniels, B. A., and J. A. Menge. 1980. Hyperparasitization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Phytopathology 70:584-588.

4. Daniels, B. A., and S. O. Greham. 1976. Effects of nutrition and soil extracts on germination of *Glomus mosseae* spores. Mycologia 68:108-116.

5. Dehne, H. W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. Phytopathology 72:1115-1119.

6. Elmes, R. P., and B. Mosse. 1984. Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production. II . Experiments with maize(*Zea mays*) and other hosts in nutrient flow culture. Can. J. Bot. 62:1531-1536.

7. Gerdemann, J. W., and T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46:235-244.

8. Graham, J. H., and L. W. Timmer. 1984. Vesicular-arbuscular mycorrhizal development and growth response of rough lemon in soil and soilless media: Effect of phosphorus source. J. Am. Soc. Hort. Sci. 109:118-121.

9. Graham, J. H., R. T. Leonard, and J. A. Menge. 1982. Interaction of light intensity and soil temperature with phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. New Phytol. 91:683-690.

10. Harley, J. L., and S. E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, New York, p. 483.

11. Hayman, D. S. 1982. Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Phytopathology 72:1119-1125.

12. Hung, L. L., and D. M. Sylvia. 1988. Production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture. Appl. & Envir. Microbiol. 54:353-357.

13. Hussey, R. S., and R. W. Roncadori. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. Plant Dis. 66:9-14.

14. Menge, J. A. 1984. Inoculum production. Pages 187-203 In: VA Mycorrhiza, C. L. Powell and D. J. Bagyaraj. eds. CRC Press, Boca Raton, Fl. 234 pp.

15. Menge, J. A. 1983. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. Can. J. Bot. 61:1015-1024.

16. Mosse, B. 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Ann. Rev. Phytopathol. 11:171-196.

17. Mugnier, J., and B. Mosse. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in transformed root-inducing T-DNA roots grown axenically. Phytopathology 77:1045-1050.

18. Plenchette, C., V. Furlan, and J. A. Fortin. 1982. Effects of different endomycorrhizal fungi on five host plants grown on calcined montmorillonite clay. J. Am. Soc. Hort. Sci. 107:535-538.

19. Powell, C. L., and D. J. Bagyaraj. 1984. VA Mycorrhiza. CRC Press, Boca Raton, Fl. 234pp.

20. Schenck, N. C. 1981. Can mycorrhizae control root disease? Plant Dis. 65:231-234.

21. Simpson, D., and M. J. Daft. 1990. Spore production and mycorrhizal development in various tropical crop hosts infected with *Glomus clarum*. Plant and Soil 121:171-178.

22. Smith, G. S., and R. W. Roncadori. 1985. Responses of three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi at four soil temperature and their effects on cotton growth. New Phytol. 104:89-95.

23. Struble, J. E., and H. D. Skipper. 1988. Vesicular- arbuscular mycorrhizal fungal spore production as influenced by plant species. Plant and Soil 109:277-180.

24. Thommerup, I. C. 1985. Inhibition of spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Trans. Br. Mycol. Soc. 85:267-278.

25. Wilson, G. W. T., B. A. Daniels Hetrick, and D. Gerschefske Kitt. 1989. Suppression of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus spore germination by nonsterile soil. Can. J. Bot. 67:18-23.

討　　論

中興大學吳文川教授問：

內生菌根菌有沒有其它微生物，如眞菌、細菌、病毒的感染，假若有它或它們也有可能影響內生菌根菌的生產。

農試所嘉義分所分所長程永雄博士答：

生物不管在空氣中、土壤中或任何地方存在，都會遭遇到一物剋一物的命運，我想內生菌根菌一定會被其他微生物寄生或感染，即所謂的超寄生(Hyperparastism)。細菌方面從掃描電子顯微鏡來看，厚膜孢子看起來雖然那麼圓、那麼的光滑，仍附著很多的細菌，但是這些細菌在一起如果是相安無事就沒關係，事實上沒有完全是無菌的狀態的。所以利用根組織培養VAM眞菌，在培養基上就要克服孢子消毒問題。消毒不好時，孢子就不發芽，我想與其他微生物之感染有關係。

Development of Mass Production of VAMF Inoculum by Sand Culture

Y. H. Cheng and M. F. Chuang
Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI

Abstract

The vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus was proved to have the compatibility with root systems of many crops. Formation of VA mycorrhiza in root systems of crops infected by VAM fungus could arise beneficial effects, i.e. promoted the growth and development of root systems, increased the absorption of soil mineral elements, enhanced the top growth of crops. Up today, the common method for propagation of VA mycorrhizal fungi were pot culture because they were obligate symbionts. Factors affected the propagation of VA mycorrhizal fungi in pot culture included host plants, soil(culture media), and environment. We developed a procedure for propagation of VAM fungus inoculum as follows:1. maintaining the pure VA mycorrhizal fungus in pot culture of bahiagrass, 2. propagation of VAM fungus in pot culture of corn, 3. mass production of VA mycorrhizal fungus inoculum in sand bed culture of corn or beggarlice, 4. air-drying and bagging the harvested culture soil including the segments of infected root systems of host plants and fungal chlamydospores. Method for application of VA mycorrhizal fungus to field was by transplanting mycorrhizal seedlings of muskmelon pre-inoculated with infested soil in plastic net house. When the mycorrhizal seedlings were transplanted to the field, mycorrhizal root systems could show beneficial effects to muskmelon production.

Key words: Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, Pot culture, Mass production

本土化氣霧耕量產菌根接種源

王均琍

國立屏東技術學院農園生產技術系

摘　要

本研究以本省業者常用之氣霧耕設施，第一期以紅豆爲寄主作物，於盆缽內播種之同時接種 *Glomus mosseae* (Gm)，感染後以三種不同營養液作氣霧耕栽培，結果顯示於0.5 強度 Hoagland's 含1/4 磷 (H 1/4P) 之營養液菌根孢子之產量優於 0.5 強度含全磷 (1H 1P) 及台肥液 (200X) 者。不同菌種產孢量亦有所不同，以 *Glomus etunicatum* (26 個孢子 / 1cm 根段) 與 *G. fasciculatum* (24 個) 高於 *G. mosseae*(12 個)。

第二期以蕃茄、玉米、百喜草爲寄主作物，亦於盆缽內播種之同時接種 *Glomus mosseae*, *G. etunicatum*, *G. fasciculatum* 與*G. clarum* 四種菌之混合孢子土，感染後以氣霧耕栽培，結果顯示玉米植株生長至後期，植株高大不易固定，故後續試驗捨之。而百喜草每公分根段產孢量高於蕃茄，惟蕃茄菌根之生物量大於百喜草者，且蕃茄果實具經濟價值，值得繼續探討。

第三期仍以蕃茄、百喜草爲寄主作物，以海棉塊育苗移作氣霧耕，之後以海棉塊內置菌根片段包覆蕃茄與百喜草根之周圍作菌根菌感染，惟海棉塊附近根系逐漸腐爛，乃將含菌根片段之細網 (接菌網) 覆於氣霧耕植株根之周圍，進行菌根菌接種，則生育期中寄主根系之發育完全不受影響，且菌根菌感染強度，囊孢與孢子產量均有增進。接菌八週後百喜草平均每公分根段孢子數30，蕃茄7.3。

就量產策略而言，本省蕃茄等經濟作物之栽培如能引用本研究所發展之方法，育苗期不予接菌，移植後，利用接菌網多次加強接菌，可大幅增加產孢量，業者之操作技術層面亦較簡便，適合大規模推廣應用。

關鍵字：氣霧耕，內生菌根菌，量產

前　言

囊叢枝菌根菌(Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi，VAMF) 具有促進植物生長及對水分、礦物營養尤其磷素之吸收能力，更有幫助植物抵抗乾旱環境、土壤病害，中和重金屬毒害，延長根系壽命和提高移植存活率等效益。如以微生物肥料型式推廣應用於田間，將有助於農業生產。由於 VAMF 係絕對共生菌，無法純粹培養，傳統方法生產接種源乃以盆缽種植寄主植物後接種 VAMF ，取其根域土壤及菌根碎段爲孢子土作爲接種源，其於商品化實際應用時，卻有接種源難以大量生產，孢子土體積與重量均較龐大，且易遭病原菌污染等困擾，本研究乃以營養液氣霧栽培菌根植物，以生產潔淨無污染，高品質之接種源。

一、　國外之氣霧耕研究：

有關氣霧耕之研究起源於1976年, Zobel等人將植物的根系裸露於以轉動葉輪打起之營養液霧氣中生長，成功地將豌豆、大豆、蠶豆、落花生、木麻黃、楊梅樹及向日葵等植物氣霧耕培

養。植株根系生長於高度通氣的營養液氣霧環境中，根系與根毛之生長發育良好。之後，Hung(1988)將百喜草與甘藷之種子播種於淺盆中同時接種菌根菌，六至八週後菌根化幼苗移置Zobel式氣霧耕培養，十四至十五週後檢視菌根每公分根段有4至51粒孢子。然鑑於植株幼苗於接種菌根菌之期間，根系周遭土壤中微生物或病原菌可能會污染菌根，Hung(1991)遂以水凝膠(hydrogel)作爲菌根菌孢子之粘著劑進行接種工作，取發芽三週之百喜草，修剪其根系至6公分長，將其浸入含孢子之凝膠中以接種菌根菌，隨即移作氣霧耕培養，十六週後有41%至68%之根系被菌根菌感染。

二、 本省之氣霧耕設施：

本省地處亞熱帶，尤其是夏季氣溫偏高，如何於設施內養液栽培時，降低營養液溫度，是必需考慮之課題，81年間於埔里觀察氣霧耕蕃茄業者係將養液桶埋設地下，可防止日光照射及溫度變化，再以幫浦抽取營養液經pv管打入氣霧耕槽中，pv管裝置極細粒子噴霧頭以造成氣霧。本實驗室亦採用上述循環式氣霧耕方法，以角鋼架組成90×75×42 cm之氣霧(aeroponic culture, Aero)槽，內舖3公分厚之保利龍板及黑色塑膠布。養液桶爲黑色塑膠桶，其直徑60公分、高98公分，內盛營養液180公升，每一養液桶連接二個氣霧槽，以自動定時裝置每隔15分鐘由養液桶抽取營養液噴霧15分鐘於植株根系。每三天調整營養液之PH使至6.0，二星期換養液一次。

三、 第一期氣霧耕：

以紅豆爲寄主作物，比較不同營養液對菌根菌產孢之影響，以及不同種菌根菌及接種期對紅豆菌根孢子產量之影響。首先三個養液桶分別盛裝0.5強度Hoagland's含全磷營養液(1/2(H1P))、0.5強度Hoagland's含1/4磷營養液(1/2(H1/4P))及台肥水耕營養液(稀釋200倍)，每一養液桶連接二個氣霧槽，每一氣霧槽種植菌根化紅豆12株，株距12 cm。菌根化紅豆之合成乃取直徑10公分黑色塑膠盆，內置0.9 Kg滅菌砂土，土面中間挖一小坑放置經滅菌並摺成漏斗形之濾紙，濾紙上滴入定量經表面消毒過之*Glomus mosseae*或*G. etunicatum*、*G. fasciculatum*孢子懸浮液，約含100粒孢子，覆土2 cm，播下表面消毒過之紅豆種子，再覆土，待種子發芽後，盆缽置於溫室中培養，每盆每二天施用1/4P Hoagland's完全營養液50ml，數週後，洗淨根系移置氣霧耕栽培。定期取樣煮根染色，調查產孢情形。結果顯示；三種營養液對紅豆菌根乾重之影響差異不顯著，但對產孢之影響，以0.5強度霍氏營養液含1/4 P (1/2(H1/4 P))顯著優於其他二者($p<0.01$)。三種菌根菌*Glomus mosseae* (Gm)，*G. etunicutum* (Ge)，*G.fasciculatum* (Gf)。氣霧耕栽培八週後Gf、Ge產孢量顯著高於Gm ($p< 0.001$)而五週、七週及九週不同之感染期對產孢量影響不顯著(圖一)。

四、 第二期氣霧耕：

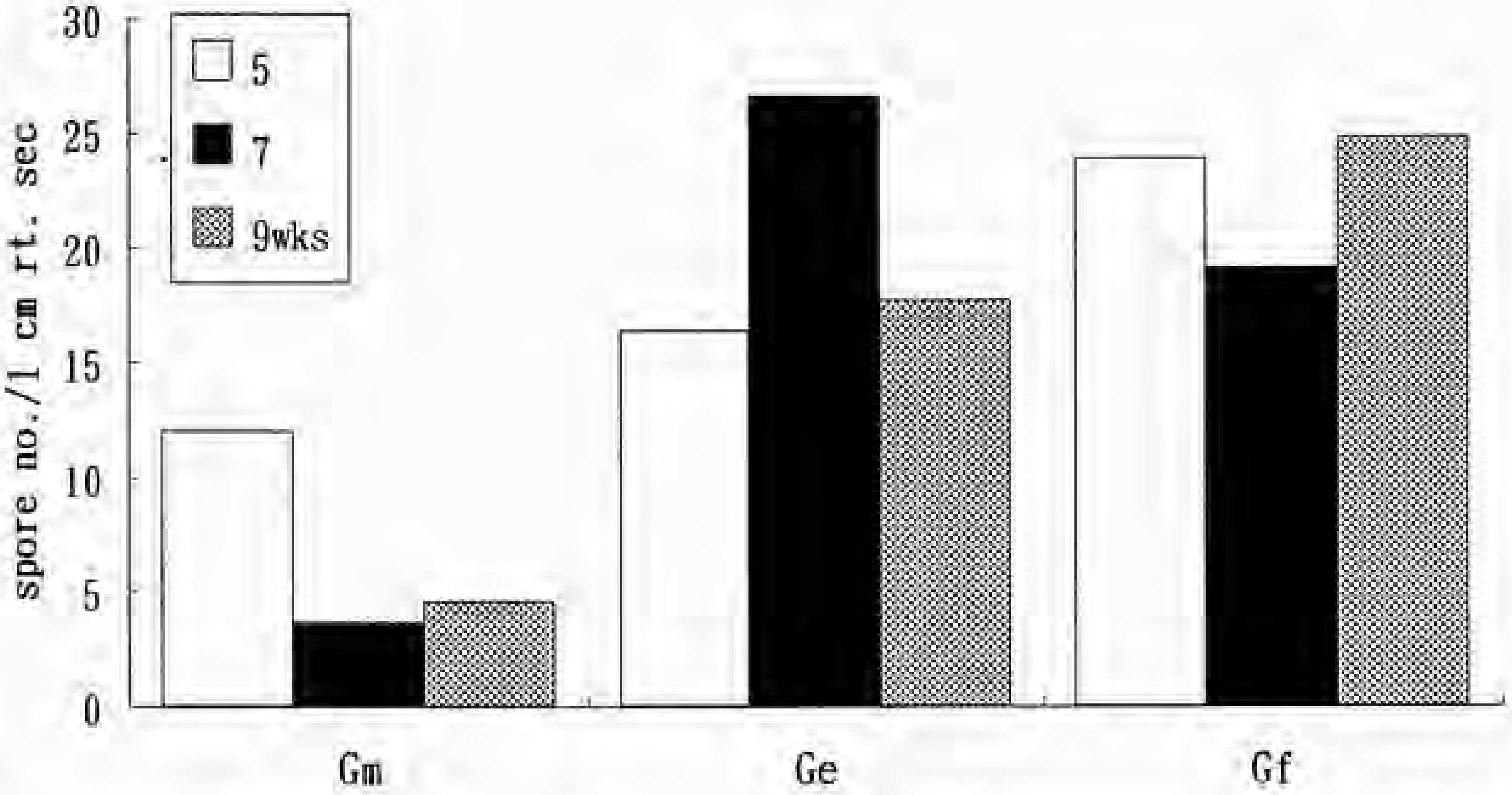
以蕃茄、玉米、百喜草爲寄主作物，亦於盆缽內播種之同時接種*Glomus mosseae, G. etunicatum, G. fasciculatum*與*G. clarum*四種菌之混合孢子土，感染後以氣霧耕栽培，結果顯示玉米植株生長至後期，植株高大不易固定，故後續試驗捨之。而百喜草每公分根段

表一、紅豆接種 *Glomus mosseae* 利用不同養液作氣霧耕栽培，菌根乾重及產生孢子之情形

營　養　液	孢子數 spore/1cm rt.	根乾重 rt.d.wt/plant
1/2(H 1/4p)*	8.69	1.12
1/2(H 1P)**	3.93	0.99
台肥液(200X)	0.43	0.87

* 1/2(H 1/4P)：0.5強度霍格蘭氏營養液含1/4磷

** 1/2(H 1P)：0.5強度霍格蘭氏營養液含全磷



圖一、紅豆接種不同種菌根菌經五、七、九週後，行氣霧耕栽培，八週後，新長出菌根上孢子產生情形。

產孢量高於蕃茄，惟蕃茄菌根之生物量大於百喜草者，且蕃茄果實具經濟價值，值得繼續探討。爲避免盆缽法接種菌根菌時，介質中之雜菌污染菌根。故進一步改進育苗及接種菌根菌之方法，並比較不同作物之感染率。由於水耕業者係將種子播種於海棉塊之十字切口內，本試驗乃將蕃茄與百喜草種子播種於小塑膠方盆內之海綿塊內育苗。另以濕篩法及蔗糖梯度法分離孢子，經氯氨T 2% (chloroamine T)加硫酸鏈黴素(sulfate streptomycin)200 ppm及界面活性劑(Tween 20，0.05%)，將孢子表面消毒20 min，以滅菌水沖洗三次，作成孢子懸浮液加注於海棉塊底部，待種子發芽長出根系，將會被菌根菌

感染。四週後，檢測菌根感染率均極低，由5-30%不等，且海綿塊下不同幼苗之根系會交互纏繞，需小心將之分離方可移植作氣霧耕。後期檢測其感染率及產孢量，兩者均極低，可能於育苗期接種菌根菌時，根系於海棉塊下浸水之環境中，菌根菌感染率即很低，後於氣霧耕栽培時期，植株養分供應充足，菌根菌絲蔓延速度未如根系快速，致感染菌根菌之根系比例降低，此爲氣霧耕量產菌根菌之瓶頸，應於氣霧耕栽培之植株根系再度加強感染菌根菌以克服之。

五、 第三期氣霧耕：

取一海棉塊縱向撕開，內置乾菌根碎片，將其包覆於發育良好之氣霧耕植株根系外圍，期能二度加強感染，二星期後檢視其感染情形，被海棉包覆之根系多有腐敗情形發生。將其置於立體解剖顯微鏡下，檢視海棉塊內作爲接種源之菌根碎片，其上孢子雖多，但發芽者卻少。尚未腐敗之根系，三個月後於立體解剖顯微鏡下檢視，雖有孢子產生但數目不多，但如能改良以新鮮菌根接種，其生活之菌根菌絲將可爲最迅速有效之接種源，且如以新鮮菌根纏繞在尼龍細網上，包覆於根系外圍，應不致如海棉塊般影響根系正常生長與發育，故著手製作接菌網。接菌網製作試驗採用玉米、蕃茄與百喜草三種寄主作物，介質採用南海眞珠石(4號) 及蛭石(4號)二種。取長方形39x28x11 cm有孔洞之塑膠籃6個，底層舖白色細目紗網，甚中三個塑膠籃內覆一層厚約3公分之介質，介質上舖一層紗網，網上再覆一層厚約3公分之介質，於介質表面施灑四種菌根菌（*Glomus mosseae*、*G. etunicatum*、*G. fascicul-atum*、*G. clarum*）混合之孢子土，孢子土上再灑下玉米、蕃茄與百喜草種子，發芽後每二天每籃施灑100 ml含1/4磷肥之Hoagland's營養液，當幼苗根系穿越孢子土層即被菌根菌感染，之後根系發育生長會纏繞在紗網上，於第四、八周，剪下紗網上之菌根，檢測菌根菌感染率、感染強度，每公分根段上囊孢與孢子數，結果顯示（表二），生長於眞珠石中之菌根，其感染率、感染強度、囊孢與孢子產生情形高於生長於蛭石中者，比較三種寄主作物感染菌根情形，又以百喜草爲佳，且百喜草生育緩慢，不似玉米與蕃茄發育快速且於開花結果後植株衰敗死亡，死亡根系纏繞之接菌網，其菌根菌之菌絲及孢子活力多已衰敗或休眠，故接菌網以採用百喜草爲寄主，眞珠石爲介質者較佳。感染率係指所檢測之根中，含有菌根菌根數之百分比。感染強度指所檢測之根中菌根菌佔根面積之平均百分比。之後以海棉塊培育番茄與百喜草幼苗，播種後三至四週移置於Hongland's含1/4磷之營養液氣霧耕培養，，四週後根系已發育茂盛，將接菌網包覆於根系外圍，八週後於接菌網周圍3公分與10公分處，分別取菌根經煮根染色顯微鏡下檢測（表三）百喜草之菌根菌感染率、感染強度、囊孢與孢子數均高於蕃茄，但菌根之鮮重卻只有蕃茄之一半，可能百喜草之植株發育較慢，其菌根菌群落（population）不致如蕃茄者般在生長快速的根上被稀釋。由蕃茄生產之菌根孢子密度雖不如百喜草，但其菌根生物量與果實之商品價值均高於百喜草，較適合推廣應用，期望未來養液栽培業者既可出售蕃茄果實，亦可出售菌根接種源。雖然目前蕃茄氣霧耕菌根孢子密度不如百喜草者，但如以接菌網行多段與多次加強接種，將可有效提高其孢子密度與接種源品質。

表二、以不同介質與寄主作物製作接菌網，其受菌根菌感染及產孢情形

寄主種類	感染率%		感染強度%		囊孢數 1cm根段		孢子數 1cm根段	
週次	4	8	4	8	4	8	4	8 (wk)
玉米								
蛭石	63	96	9	28	0	12	0	5
眞珠石	66	98	19	44	0	13	0	16
蕃茄								
蛭石	81	82	25	18	0	4	0	1
眞珠石	82	84	31	28	0	3	0	3
百喜草								
蛭石	54	94	14	23	0	7	0	2
眞珠石	84	96	32	40	0.2	12	0	21

* 感染率＝被感染根數／檢測根總數×100%

** 感染強度＝菌根菌佔根面積比例之平均值×100%

表三、以接菌網接種氣霧耕培養之蕃茄與百喜草根部，八週後菌感染及產孢情形

寄主種類	感染率%	感染強度%	囊孢數 1cm根段	孢子數 1cm根段
蕃茄				
接菌點周圍				
3cm	58	34.1	2.10	7.3
10cm	38	12.6	0.01	0.1
百喜草				
接菌點周圍				
3cm	65	36.2	14.70	30.0
10cm	46	24.5	11.90	12.8

結　語

菌根於通氣良好之氣霧耕環境下，菌根菌之感染率（infection rate）、感染強度（infection intensity）與孢子密度均不亞於傳統土耕方式，而且其根系裸露於氣霧槽中，可以隨時以接菌網行多段多次之加強感染，由於接菌網上含有活的菌根菌絲、孢子等，感染之有效性大幅提高，只要選對寄主與營養液，必能生產潔淨、輕便與高密度之接種源。此種高品質之接種源極適合應用於種子被覆（coating）及小穴盤育苗接種；此種氣霧耕生產之接種源，未來之需求空間很大。目前亟須加強研究的方向爲1.開發寄主種類；例如：草莓、小黃瓜、青椒、萵苣等，除了寄主根系可作爲菌根接種源出售外，以其枝系產物亦可出售者爲佳，如此生產利潤提高，農民之種植意願提昇，接種源之生產成本方可降低，菌根之推廣應用亦指日可待。2.營養液之選擇：目前以含磷量較少之Hoagland's 營養液爲佳，但不同之作物種類對營養之需求亦有所不同，目前亦在試驗市售且使用方便的營養液，如台肥液、 plant prod 等，期針對不同之寄主作物選出既適合作物生育，又有利於菌根產孢之營養液。 3.有效接種方式之再研究；以接菌網包覆於氣霧耕植株根系外圍，雖可行多段多次之加強感染，然接菌網其接種潛勢之優劣，仍爲關鍵所在；故如何維持及提高接菌網上菌根菌絲及孢子之活力與密度，仍應加強研究。就量產策略而言，本省蕃茄等經濟作物之栽培如能引用本研究所發展之方法，育苗期不予接菌，移植後，利用接菌網多次加強接菌，可大幅增加產孢量提升接種源品質，業者之操作技術層面亦較簡便，適合大規模推廣應用。

參考文獻

1. 王均琍 1989 內生菌根對紅豆生及產量之影響。中華農學會報 148:67-80。

2. 王均琍 1992 紅豆內生菌根生理之研究。中興大學植物研究所博士論文。

3. 王銀波、趙震慶 1991 囊叢枝菌根與重金屬對土耕大豆吸收磷與重金屬之影響。中華農學會報 157:6-18。

4. 張喜寧 1992 台灣園藝囊叢枝菌根之研究與展望。科學農業 40(1-2):45-52。

5. 杜金池、程永雄 1990 接種內生菌根菌開發洋香瓜宿根栽培獲得成功。豐年 40(14):22-25。

6. 陳昇明、廖松淵 1978 盤固草之營養條件與其矮化生長和矮化病之關係。中華農學會報 125:72-82。

7. 莊祿崇 1989 植物內生菌根繡球菌(*Glomus* spp.)的特性及其對玉米生長影響之研究。中興大學植物研究所碩士論文。台中。台灣。

8. 曾顯雄 1985 菌根菌之最近研究發展。眞菌之最近發展。國科會專刊 12:45-70。

9. 楊秋忠、莊作權、郭鴻裕 1984 接種內生菌根對大豆生長、生產、固氮作用及礦物磷利用之效應。中華農學會報 128:29-42。

10. Allen, M. F., W. K. Smith, T. S. Moore, Jr., and M. Christensen. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. H. B. K. lag ex steud. New Phytol. 88:683-693.

11. Auge, R. M., and ANN J. W. Stodola. 1990. An apparent increase in symplastic water contributes to greater turgor in mycorrhizal roots of droughted rosa plants. New Phytol. 115:285-295.

12. Hayman, D. S. 1980. Mycorrhiza and crop production.Nature 287:487-490.

13. Hung,L. L., and D. M.Sylvia. 1988. Production of vesicular arbuscular mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture. Appl. and Environ. Microbiol. 54(2):353-357.

14. Hung L.L., D.M. O'keefe and D.M. Sylvia. 1991. Use of hygrogel as a stickihg agent cauuier for vesicular mycorrhizal fung. Mycol. Res. 95(4):427-429.

15. Sylvia, D. M., and D. H. Hubbell. 1986. Growth and sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in aeroponic and membrane systems. Symbiosis 1:259-267.

16. Thompson, J. P. 1986. Soilless culture of vesicular- arbuscular mycorrhizae of cereals: effects of nutrient concentration and nitrogen source. Can. J. Bot. 64:2282-2294.

17. Zobel R. W., P. D. Tredici, and J. G. Torrey. 1976. Method for growing plants aeroponically. Plant Physiol. 57:344-346.

Mass Production of Mycorrhizal Fungus Inoculum by Domestic Aeroponic Culture

Chun-Li Wang

Department of Plant Industry, National Pingtung Polytechnic Institute. Pingtung, Taiwan R.O.C.

Abstract

Aeroponic culture by operating with domestic equipment was utilized to produce mycorrhizal fungus inoculum. In the first stage, adzuki bean seeded in pot was adopted as a host plant inoculatcd with *Glomus mosseae* (GM), After being precolonized, the seedlings of adzuki bean were transplanted in aeroponic culture. The results showed that among the three nutrient solutions used in this study, spore production of mycorrhizal fungus cultivated in 0.5 strength Hoagland's solution containing 1/4 amount of phosphate was better than that in 0.5 strength Hoagland's and Taifei nutrient solution (200X). Among the three mycorrhizal fungi used, spore productions of *Glomus etunicatum* (26 spores / l cm root section) and *G. fasclculalum* (24 spores) were more abundant than that of *G. mosseae* (12 spores).

In the second stage, tomato, corn and behia grass were used as host plants. The mixture of soil inoculnm of *Glomus mosseae,G. etunicatum,G. fasciculatum* and *G. clarum* were inoculated on host plants seedling in pots. After being precolonized by mycorrhizal fungi, seedlings were transplanted in aeroponie culture. The results showed the shoots of corn were too high to be handled with aeroponic culture, and was abandoned in later experiment. Although the spore production per l cm colonized root of bahia grass was more abundant than that in tomato. the biomass of colonized tomato roots was higher than that of bahia grass, and tomato has higher economic value. it is worthy to that tomato as a host crop to produce mycorrhizal fungus inoculum in further study.

In the third stage, tomato and bahia grass were used as host plants, seeded in spongy lump. After germination, seedlings were transplanted in aeroponic culture. The roots were packaged with a piece of sponge containig mycorrhizae fragments for inoculation. However, the roots near sponge were decaying gradually. Fine net containing mycorrhizae fragment (inoculation net) was adopted to wrap host roots cultivated in aeroponic culture to obtain inoculation, The results showed the development of host root is unaffected, and the infection strenght of mycorrhizal fungi, the production of vesicle and spore were improved. 8 weeks after inoculation, the spore number per 1 cm colonized root of bahia grase is 30, that of tomato is 7.3.

For mass production strategy in Taiwan, economic crop such as tomato, could highly improve its sporulation when seedlings were inoculated with mycorrhizal inoculation net after aeroponie culture. The inoculation technique developed in this study is convenient for producer, and therefor suitable for large application and extention.

Key words: Aeroponic culture, Mycorrhizal fungus, Mass production

囊叢枝菌根在花卉上之應用

張喜寧[(1)] 鄭淑芬[(2)] 文紀鑾[(2)] 江婉祺[(2)] 邱郁月[(2)]

[(1)] 台大園藝系教授及 [(2)] 研究生

摘　　要

囊叢枝菌根(ＶＡＭ)在花卉上之應用最近才起步，其研究遠比果樹與蔬菜爲少，但其應用則頗具前途。本研究室以百日草、萬壽菊、百合、菊花、組織培養非洲菊及矮牽牛爲材料研究其菌根反應，發覺ＶＡＭ一般可促進作物之營養生長及生殖生長；提早開花自１～４週；增加花數與鮮花重量；延長非洲菊之瓶插壽命；促進花梗維管束組織之發育提高花卉品質；抗水分逆境；增加養分之吸收等功效。

歸納學者所提有關ＶＡＭ促進作物營養生長之原因，主要以它可促進作物更有效利用氮、磷肥與其他微量元素之吸收。而促進生殖生長則可能原因有四，即(１)促進寄主之耐磷肥及其他微量元素的吸收；(２)促進荷爾蒙的平衡及產生；(３)加速作物營養生長，間接提早生殖生長；(4)作物本身的基因表現所致。

日本「出光興產株式會社」近年來致力於研究ＶＡＭ在花卉上之應用，可能是對花卉菌根最有研究之單位，已正式在販售ＶＡＭ菌種中，商品名叫金剛博士(Dr. Kinkon)。

關鍵字：生長反應，開花期，切花，瓶插壽命。

在園藝囊叢枝菌根(Vesicular-arbuscular mycorrhiza；VAM)研究中，花卉之研究遠比果樹及蔬菜爲少，然而外國文獻中仍可見天竺葵、百合、聖誕紅、玫瑰、鬱金香、唐菖蒲、香水草、吊鐘花、除蟲菊、菊花、萬壽菊及組織培養的波士頓腎蕨等皆可形成囊叢枝菌根[(1)]。菌根之矮牽牛及菊花的花數及乾物重皆比非菌根者增加[(11,13)]。百合菌根植株組織內所含之N、P、K、Ca、Mg亦較多，且球數增加、體積變大[(5)]。菌根鬱金香之株高及根部發育皆受促進[(10)]。聖誕紅接種大孢子屬孢子(*Gigaspora calospora*)後，總鮮重增加25-45%[(8)]。菌根矮牽牛之花數增多，且含較多的維管束[(11)]。菌根天竺葵可產生較多花莖且開花整齊[(9)]。菌根玫瑰之植株乾重、葉面積及根表面積皆顯著增加[(13)]。除蟲菊屬之菌根植株種苗較高，分枝數、根長皆可增加，並可提早開花7～10天[(14)]，而香水草屬(*Heliotropium*)及吊鐘花(*Fuchsia*)之菌根植株可提早開花並可增加花數[(7)]。ＶＡＭ又可促進聖誕紅之扦插發根及根鮮重[(8)]；組織培養(*Pistacia integerrima*)之幼苗生長[(20)];增加波士頓腎蕨組培苗葉片長度及匍匐莖數目等[(18,19)]。菌根萬壽菊可增加花數、枝條及根之鮮重[(16)]及磷含量[(17)]，並可增加花鮮重與乾重[(2)]。菌根玫瑰抗水分逆境之能力增強[(12)]。

本研究室自1988年起致力於菌根花卉之生理研究，以孔雀草、萬壽菊、百日草、百合、菊花及組織培養之非洲菊、矮牽牛和百合小苗爲材料，期望由其生長與發育之反應評估VAM在花卉應用上之可行性。

綜合中外文獻與本研究室多年之研究成果，歸納出VAM對花卉作物有如下功效：

1. 促進花卉作物之營養與／或生殖生長：例如百日草(表1)、萬壽菊(表2)。
2. 提早開花：少則一週(如孔雀草、萬壽菊、百日草等)，多則11-24天(表3)。
3. 增加花數與鮮花重量：菌根非洲菊(表４)、百合(表５)及矮牽牛(表６)之花數皆可顯著增加。且非洲菊鮮花之乾重亦增加(表７)。
4. 延長鮮花之瓶插壽命：菌根非洲菊鮮花之瓶插壽命在8-HQS溶液中可比非菌根者長約3～5天之多(表８)。
5. 促進維管束組織之發育：如萬壽菊根部維管束組織以菌根者發育爲佳(圖1)。因而較可避免維管束被細菌阻塞而成垂頸現象，故可延長鮮花之瓶插壽命。
6. 改善花卉品質：紫皇百日草之菌根植株其花瓣數顯著增加(表９)。
7. 抗水分逆境：玫瑰及天竺葵皆有此類報導[12,21]，可能原因計有(1)菌絲伸出根外增加吸收面積；(2)增加鉀與氮離子吸收而增加滲透調節[6]；(3)經由荷爾蒙調節作用，改善氣孔開閉作用[3]；(4)增進對氣孔的控制[4]；(5)增加組織內水分運輸能力，因此有較大膨壓而抗旱。
8. 增加養分之吸收：菌根萬壽菊植株體內總含磷量增加，亦可增加氮、鉀、鎂、銅之含量[17]。菌根玫瑰可增加鉀、磷、硫、錳、鋅之吸收[12]。菌根百合對氮、磷、鉀、鈣、鎂之吸收皆有增加[5]。菌根聖誕紅之磷含量增加，但錳含量降低[15]。菌根非洲菊植株內之鉀、磷、鋅、銅含量增加，但錳之含量降低[1]。

至於菌根花卉對土生病害抗性之研究成果甚少，仍有待吾人去深入探討。

歸納學者所提有關VAM促進作物營養生長之原因，主要以它可促進作物更有效利用氮、磷肥與其他微量元素之吸收。而促進生殖生長則原因有四，即(１)促進寄主之耐磷肥及其他微量元素的吸收；(２)促進荷爾蒙的平衡及產生；(３)加速作物營養生長，間接提早生殖生長；(４)作物本身的基因表現所致。

結論與建議

囊叢枝菌根在花卉上之研究雖然起步較晚，但可能是園藝菌根中最具應用潛能之植物種類，值得吾人重視之。建議適用之範圍如下：

1. 穴盤育苗。
2. 組織培養苗之移植接種。
3. 高價花苗之培育。
4. 可減少磷肥之施用量。
5. 產期調節。

對花卉菌根最有研究之單位，已正式在販售VAM菌種中，商品名叫金剛博士(Dr. Kinkon)。

表1．紫皇品種之百日草於25/20℃下接種不同*Glomus* spp.三個月後之生長反應(2)。

處理[x]	株高	地上部鮮重	地上部乾重	地下部鮮重	地下部乾重	花鮮重	花乾重	花瓣數
Ge	63.17	23.45	4.28a	6.86	0.86	9.60b	1.77	132.33b[y]
Gf	56.33	21.03	3.22b	7.29	0.86	8.10c	1.32	123.33b
Gm	59.33	18.19	2.80b	5.94	0.63	12.13a	1.87	231.67a
NM control[z]	54.50	20.42	2.96b	5.62	0.58	4.65d	0.83	37.67b

X. Three samples were tested for each treatment.
Y. Means followed by the different letter in the column are significant (p=0.05) as determined by Duncan's new Multiple Range Test.
Z. NM control = Non-mycorrhizal control.
growth medium：Soil：sand：bark = 2:1:1.

表2．橙扣品種之萬壽菊接種三種*Glomus* spp.四個月後之生長反應(2)

處理[X]	株高	地上部鮮重	地上部乾重	地下部鮮重	地下部乾重	花鮮重	花乾重	根徑	花徑
Ge	87.60	62.07	10.70	15.14	3.04	31.97a	4.55	8.10	10.23a[Y]
Gf	94.20	63.62	11.05	14.81	2.03	23.76ab	3.35ab	8.00	8.90ab
Gm	88.20	63.16	10.70	16.91	3.26	26.11ab	3.56ab	8.60	9.50ab
NM control[Z]	92.20	74.72	11.90	20.34	2.58	18.27b	2.54b	8.50	7.30b

X. Three samples were tested for each treatment.
Y. Means followed by the different letter in the column are significant (p=0.05) as determined by Duncan's new Multiple Range Test.
Z. NM control = Non-mycorrhizal control.
growth medium： Soil：sand：bark = 2:1:1.

表 3．繡球屬菌根菌對四種切花作物開花期之影響

Crop	Cultivar	*Glomus* spp.	Days to flowering		
			Non-Mycorrhizal	Mycorrhizal	Extent of early flowering(days)
French Marigold	Bolero	Ge. Gm.	61-65	50	11-15
	Queen Sophia	Ge.Gm.	42	35-36	6-7
	Scarlet Sophia	Ge.Gm.	61-65	50	11-15
	Yellow Boy	Ge.Gm.	78	59-60	18-19
Marigold	Clinton	Ge.	75	63	8
	Sunshine	Ge.	109	88	21
Gerbera	Tennessee	Ge.	128	112	16
	Regina	Gm.	87	78	9
Zinnia	Lilliput Mixed	Ge. Gf. Gm.	50-60	45-52	5-8
	Royal Purple	Ge.Gm.	84	60-64	20-24

Glomus spp：
Ge *Glomus etunicatum* Becker & Gerd.
Gf *Glomus fasciculatum*(Thaxter sensu Gerd.) Gerd. & Trappe
Gm *Glomus mosseae*(Nic. & Gerd.) Gerd. & Trappe

表 4．*Glomus* sp.對十五個月大「Regina」品種組織培養非洲菊在25˚C下切花產量之影響[1]

處 理[z]	側枝數目	切花產量(花數/株)
Noninoculated[x]	5.6b[y]	23.0b
Inoculated		
Ge	8.0a	28.3a
Gf	6.0b	25.6b
Gm	8.0a	29.6a

X. Three replications were tested for each treatment.
Y. Least Significant Difference (L.S.D., p=0.05)*Significant, NS Nonsignificant.
Z. Noninoc. Noninoculated
Ge *Glomus etunicatum* Becker & Gerd.
Gf *Glomus fasciculatum* (Thaxter sensu Gerd.) Gerd. & Trappe
Gm *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe

表5．不同菌對亞洲百合 *Grand Paradiso* 生長之影響

菌　種	株　高	花　數	苞　長
CK[x]	64.10b[y]	2.3b	5.2
Glomus mosseae	65.80b	2.3b	5.2
Glomus etunicatum	73.60a	3.0a	6.0

X. Each value is the mean of 30 replicates

Y. Means followed by the different letters are significant (p=0.05) by Duncan's Multiple Range Test.

表6．矮牽牛極白(Ultra whita)品系在根基旺中接種不同種類菌根菌對生長與開花數之影響

菌　種	地上部鮮重	地下部鮮重	地下部根重	開花數
CK	48.02b[x]	3.28a	0.48ab	56.00b
Gig	73.12a	4.96a	0.63a	92.00a
Go	66.76a	4.48a	0.38a	87.60a
Gx	63.32a	4.72a	0.61a	53.40b

Five replications were tested for each treatment.

X:Means followed by the different letter in the column are significant (p=0.05) as determined by Duncan's Multiple Range test.

CK：Non-mycorrhizal

Gig：*Gigaspora* spp.

Go ：*Glomus occultum*

Gx ：*Glomus etunicatum* and *Glomus mosseae*

表7．溫度對菌根與非菌根非洲菊(cv. *Tennensee*)切花鮮重之影響(1)

Treatment	Fresh Weight of flower (g)			
	NM[z]	Ge	Gf	Gm
30/25℃	16.08c[y]	19.61c	16.59c	18.20c[x]
25/20℃	27.14b	27.45b	27.31b	26.71b
20/15℃	34.45a	35.96a	33.23a	35.99a

X. Three replications were tested for eacth treatment and 6-12 samples for each replication

Y. Means followed by the different letter in the column are significant (p=0.05) as determined by Duncan's Multiple Range test.

Z. NM Nonmycorrhizal
Ge *Glomus etunicatum* Becker & Gerd.
Gf *Glomus fasciculatum* (Thaxter sensu Gerd.) Gerd.
Gm *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe

表8．在埔里田間生長之「田納西」品系組織培養非洲菊在移植時接種*Glomus* sp.所產切花在二種保鮮液中之瓶插壽命(天數)[1]

菌種	保鮮藥劑	
	8-HQS	8-HQS+蔗糖
CK	14.0b[x]	21.4a
Ge	18.0b	22.6a
Gf	17.0b	21.2a
Gm	19.6a	20.4a

X. Means followed by the different letter in the column are significant (p=0.05) as determined by Duncan's Multiple Range test.

CK：Non-inoculated

Ge：*Glomus etunicatum* Becker Gerd.

Gf：*Glomus fasciculatum* (Thaxter sensu Gerd.) Gerd. & Trappe

Gm：*Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe

表9．不同品種之百日草於不同溫度下接種*Glomus* spp.後之一朵花之花徑與花瓣數[2]

Treatment[x]	Temperature regime			
	30/25℃		25/20℃	
	Petal number	Flower diameter	Petal number	Flower diameter
		Royal Purple		
G. etunicatum	148.40	7.50	288.33a[y]	9.17
G. fasciculatum	170.80	7.00	310.66a	8.27
G. mosseae	135.80	7.60	342.66a	9.00
NM control[z]	199.80	7.80	88.33b	9.00
		Lilliput Mixed		
G. etunicatum	56.40	3.55	135.00	4.00
G. fasciculatum	73.60	3.50	187.60	3.88
G. mosseae	47.80	2.95	174.00	3.30
NM control	102.20	3.57	107.20	3.30

X. Three samples were tested for each treatment.

Y. Means followed by the different letter in the column are significant(p=0.05) as determined by Duncan's new Multiple Range Test.

Z. NM control = Non-myhcorrhizal control.

參考文獻

1. 文紀鑾 1991 溫度與繡球數菌根菌對組織培養非洲菊生長與切花品質之影響。國立台灣大學園藝研究所碩士論文 158p.

2. 鄭淑芬 1989 囊叢枝菌根菌之單孢培養及其對三種花卉作物生長發育之影響。國立台灣大學園藝研究所碩士論文 108p,

3. Allen, M.A. 1982. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on water movement through *Boutelous gracilis*. New Phytol. 91:191-196.

4. Allen, M.F., T.S. Moore, and M. Christensen. 1980. Phytohormone changes in *Boutelous gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Cytokinin increase in the host plant. Can. J. Bot. 58:371-374.

5. Ames, R.N. and R.G. Linderman. 1978. The growth of easter lily (*Lilium longiflorum*) as influenced by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *Fusarium oxysporum*, and fertility level. Can. J. Bot. 56:2773-2780.

6. Auge, R.M., K.A. Schekel, and R.L. Wample. 1986b. Osmotic adjustment in leaves of VA mycorrhizal and nonmycorrhizal rose plants in response to drought stress. Plant Physiol. 82:765-770.

7. Backhaus, G.F. 1983. EinfluB der Vesikularen-arbuskularen mykorrhiza auf die generative Entwicklung von Heliotropium und Fuchsia. Gartenbauwissenschaft 48(5):197-201.

8. Barrows, J.B. and R.W. Roncadori. 1977. Endomycorrhizal synthesis by *Gigaspora margarita* in poinsettia. Mycologia 69:1173-1184.

9. Biermann, B.J., R.G. Lindermann. 1983a. Effect of container plant growth medium and fertilizer phosphorus on establishment and host growth response to vesicular-arbuscular mycorrhizae. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108(6):962-971.

10. Chilvers, M.T. and F.J. Daft. 1981. Mycorrhizas of the liliflorae. II. Mycorrhiza formation and incidence of root hairs in field grown narcissus L., tulipa L. and crocus L. cultivars. New Phytol. 89:247-261.

11. Daft, M.J. and B.O. Okusnya. 1973a. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. V. Influence of infection on the multiplication of viruses in tomato, petunia and strawberry. New Phytol. 72:975-983.

12. Davies, F.T., Y. Castro-Jimenez, and S.A. Duray. 1987. Mycorrhizae, Soil amendments water relations and growth of *Rosa multiflora* under redured irrigation regimes. Sci. Hort. 33:261-267.

13. Johnson, C.R., J.A. Menge, and E.L.V. Johnson. 1982b. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. Sci. Hort. 17:265-269.

14. Kandasamy, D., G. Oblisami, S. Mohandoss, and P. Santhanakrishnan. 1986. Influence of VA-mycorrhizal inoculation on the growth of pyrethrum in the nursery. Pyrethrum Post 16(3):81-83. (cited in Hort Abs. 1989. Vol.59 No. 2 1451)

15. Kaye, J.W., F.L. Peleger, and E.L. Stewart. 1984. Interaction of *Glomus fasciculatum* and *Pythium ultimum* greenhouse-grown poinsettia. Can. J. Bot. 62:1575-1579.

16. Plenchette, C., V. Furlan, and J.A. Fortin. 1983a. Responses of endomycorrhizal plants grown in a calcined montomorillonite clay to different levels of soluble phosphorus. I. Effect on growth and mycorrhizal development. Can. J. Bot. 61:1377-1383.

17. Plenchette, C., V. Furlan, and J.A. Fortin. 1983b. Responses of endomycorrhizal plants grown in a calcined montomorillonite clay to different levels of soluble phosphorus. II. Effect on nutrient uptake. Can. J. Bot. 61:1384-1391.

18. Poton, F., Y. Piche, S. Parent, and M. caron. 1990a. The use of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Boston fern production : I. Effects of peat-based mixes. HortScience 25(25):183-189.

19. Ponton, F., Y. Piche, S. Parent, and M. Caron. 1990b. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Boston fern production : II. Evaluation of four inocula. HortScience 25(4):416-419.

20. Schubert, A. and A. Martinelli. 1988. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal on growth of *in vitro* propagated *Pistacia interrima*. Acta Hort. 227:441-443.

21. Sweatt, M.R. and F.T. Davies. 1984. Mycorrhizae, water relations, growth and nutrient uptake of geranium growth under moderately high phosphorus regimes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109(2):210-213.

The Use of Vesicular-arbuscular Mycorrhiza on Flower Crops

Chang, C. N.(1), Cheng, S. F.(2), Wen, C. W.(2), Chiang, W. C.(2) and Chiu Y. Y.(2)

(1) Professor and (2) graduate student, National Taiwan University

Abstract

Researches for the use of vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) on flower crop were started recently. Thus, its researches are much less than that of fruit and vegetable crops. But it has the greatest potential for practical use. The responses of zinnia, marigold, lily, chrysanthemum, micropropagated gerbera and petunia on the infection of VAM fungi were studied. It was found that VAM showed the following benefits: 1. enhanced vegetative and reproductive growth of crops; 2. earlier flowering for 1-4 weeks; 3. increased flower number and fresh weights; 4. prolonged vaselife for gerbera; 5. enhanced the development of vasicular bundles in flower scapes; 6. higher flower quality; 7. increased water-stress resistance; and 8. stimulated mineral absorption.

Scientists summerized that the cause of increase in mineral absorption by VAM was mainly due to the available use of nitrogen and phosphate fertilizer and increase in the uptake of some microelements by the VAM plants. There were four possible reasons for the VAM to enhance reproductive growth, i.e. 1. increased the tolerance of phosphate by the host plant, and stimulated the absorption of mineral elements; 2. enhanced the equlibrium and production of hormones; 3. stimulated vegetative growth and indirectly enhanced reproductive growth; 4. the gene expression of the crops.

Idenitsu Kosan Co., Ltd. of Japan recently intensively studied the use of VAM on flower crops, and found promising results. Now they have made VAMF inoculum named 'Dr. Kinkon' as commercial product.

Key words: Growth response, Flowering period, Cut flower, Vase-life

內生菌根菌在園藝作物上應用之經驗談

陳銘森[1] 洪欽祥[2]

[1] 溪口鄉
[2] 後龍鎮

摘　要

內生菌根菌是一種有益的土壤微生物，可增加作物對土壤養份之吸收，促進作物之生長。本人於民國七十六年首次接觸內生菌根菌，菌種來源是由嘉義農業試驗分所提供，主要試驗作物是洋香瓜(農友天蜜品種)，當時在程博士的指導下，於洋香瓜育苗時即進行接種。首次使用時即發現接種內生菌根菌之洋香瓜萌芽率達到97%，且植株發育整齊健壯，對照未接種區萌芽率則爲92%且生長情形參差不齊。田間生育調查結果，接種區生長旺盛比對照區提早七天結果，果實甜度提高。由於接種區植株生長旺盛，根系健壯，本人在七十七年即進行宿根栽培，結果顯示可節省生長期25天，成本費減少五分之二。

由於內生菌根菌應用在洋香瓜的結果令人滿意，本人自78年起即分別在百合、菱角絲瓜、聖女小番茄、西瓜、甜椒、木瓜、小黃瓜、豇豆等園藝作物上進行接種比較。78年春夏時進行百合之栽培，五月中旬抽苞，至高溫期接種區植株莖長80公分，落苞率爲10%，對照未接種區植株莖長60公分，落苞率達40%。79年用於菱角絲瓜之栽培，接種內生菌根菌之植株可提早10天結果，果品品級上級品達80%，產量3500公斤，對照未接種區上級品60%，產量2900公斤，比較後顯示接種內生菌根菌增產20%，產値增加40%。80年用於聖女小番茄並進行宿根栽培，結果接種區二期作在植株生長、產量、品質均良好，且宿根株與新植株並無差異，而對照未接種區二期宿根，植株生育衰退，品質不良。81年用於溫室木瓜，於82年9月下旬採收，果實甜度達到17度，83年2月下旬採收之果實，低溫後品質正常，甜度10-12度，其餘資料觀察中。82年冬季溫室小黃瓜、豇豆試作中，目前生長良好。

在溪口鄉之設施園藝，目前中型簡易溫室有6.5公頃，簡易隧道大約有20公頃，自78年推廣使用內生菌根菌至今，由於成果良好，因而未曾間斷，嘉義農業試驗分所希望農民作對照未接種之比較，但農民大都沒有配合意願。値此台灣農業轉型期，承受相當多種之壓力，比如人口老化、農地狹小、人工欠缺、生產成本高、市場面臨開放及市場不健全等，若欲提昇農業收益，必需提昇品質，開發本土特有口味之產品，在消費市場才能立足，相對地，保護農業生態環境也是相當重要的，目前倡導有機農業即是根源於農業永續利用的觀念上，而微生物肥料的應用即是有機農業的一環，基於此及本人數年來使用內生菌根菌的心得，微生物肥料的推廣應可令大多數農民所接受。

利用生物濾床法去除農、工業臭味之研發與應用

高銘木[1] 劉保文[2] 唐俊成[2]

[1] 國立成功大學環境工程系暨研究所教授，[2] 碩士班研究生

摘　要

畜牧、水產加工及化學工業所逸散之惡臭氣味不但降低生活環境品質，而且可能危害人體健康，不合乎環保空氣污染之管制標準，常導致公害糾紛之事件。空氣中常見之臭味主要爲含硫、氮化合物、芳香或脂肪族醇、醛、酸等揮發性有機化合物及有毒氣體如酸、鹼、含氯、苯、烯類碳氫化合物等。有關惡臭氣味控制技術一般可分爲物理脫臭法(水洗、活性碳吸附、冷凝、大氣稀釋)、化學脫臭法(藥劑吸收、化學吸附、燃燒、觸媒氧化及中和劑等)及生物脫臭法(土壤吸附、活性污泥法、酵素水解法)。本文主要探討以鋸木屑、泥炭土、堆廄肥等爲濾材添加或不添加農工廢水活性污泥所組合而成之生物濾床系統(biofilter system)處理畜殖場中堆肥醱酵場、糞尿處理池及石化工業區內綜合污水處理場所排放之臭味，並比較各種組合之生物濾床 對臭味之去除效率及瞭解臭味物質在生物濾床中之傳輸、吸附、轉化過程及其除臭機制。此外，亦闡明生物濾床之含水量、pH、粒徑大小、孔隙度及臭味物質濃度等對脫臭效率之影響，估算單位容積或重量生物濾床之最大負荷量及反應動力模式，做爲未來實場試驗之參考。

關鍵字：生物濾床，臭味，除臭率，除臭機制。

前　言

近年來因惡臭(odor)而引起之空氣污染及公害糾紛事件屢見不鮮，由於惡臭氣味係屬於人類嗅覺感受不愉快之主觀判斷，加上許多臭味問題並非單一臭味物質所致，常源自多種以上之臭味物質所引起之綜合惡臭，因此，雖借助許多精密儀器如GC，HPLC，IR及MS等能夠精確檢測出極微量之臭味物質濃度與種類，但由於人類鼻子之嗅覺遠較儀器靈敏與綜合臭味物質有其加成性(additive effect)及加乘性(synergistic effect)，儀器檢測臭味物質已無法完全公正評斷臭味問題，因此，目前國內外對臭味問題之評斷標準係採用「儀器分析法」與「綜合惡臭官能測定法(三點式嗅袋法)」做爲管制空氣中臭味物質之排放標準(表一、表二)。

惡臭氣味之發生源可能來自各種產業，其中以畜牧業、水產加工業、紙漿製造業、皮革、染整業及石化工業等爲主，本人近年來從事有關畜牧業及石化工業惡臭氣味問題之研究發現畜牧業及石化工業之主要臭味物質及其發生源(如表三、表四)指出畜牧業及水產加工業之臭味物質大多以硫化氫、甲硫醇、二甲基硫、二甲基二硫、氨、三甲基胺等爲主，此外還有一些低級脂肪醇、醛、酮、酸類，臭味發生源則以廢棄物處理場、糞尿處理場污水處理場、畜舍及屠宰場爲主。石油化學工業之主要臭味物質則除包括上述含硫、含氮化物外，還可能逸散一些有毒之苯、甲苯、二甲苯、乙烯、氯乙烯、丁二烯、丙烯晴等碳氫化合物。臭味發生源主要來自綜合污水處理場之調勻池及曝氣池或工廠之排放管道。

本人過去一、兩年來以惡臭官能測定法與儀器分析法連續檢測大社石化工業區內之揮發性有機化合物與臭味物質濃度、特徵及種類。藉此瞭解工業區惡臭氣味之主要發生源及其分佈狀況。結果發現工業區內大氣臭味以綜合污水處理場之曝氣池與調勻池爲主要臭味發生源，其臭味濃度數值目55至1303不等(表五)。紅外線吸光光譜及氣相層析儀所測得之臭味物質種類與濃度亦以曝氣池及調勻池最多且較高，其中以甲醇(9.36-37.27ppm)、醋酸(0.41～3.30ppm)、丙烯睛(0.70～383.67ppm)、甲基胺(6.30～12.93ppm)、二甲苯(13.95～24.36ppm) 等爲主要臭味物質、氨、丙酮、苯、丁二烯及氯乙烯次之(表六a、表六b)。進一步以臭味影響濃度公式分析指出以甲硫醇、甲基胺、醋酸及丙烯睛爲主要臭味物質(表七)。換言之，若欲改善工業區內之 惡臭氣味，必須首先設法去除工業區內(尤其是綜合污水處理場) 所逸散之含硫、含氮、有機酸及烯睛類揮發性有機化合物，方能解決臭味問題[4]。

本研究擬採用泥炭土生物濾床(peat biofilter technique)做爲去除石化工廠臭味之主要原因：1. 主要惡臭物質大多爲生物能夠利用之碳、氮、硫化物如醋酸、甲基胺、氨、甲硫醇等化合物(丙烯睛或二甲苯屬較難生物分解之化合物)；2. 臭味物質濃度屬於中低濃度，適宜生物處理；3. 泥炭土具有極爲優良之理化生物特性，如50％有機質，25％腐植酸，pH4.0， 極高之陽離子交換能力(CEC)，比表面積、孔隙率及高活性之微生物族群等，對惡臭物質具有吸附及轉化作用而除臭。有關利用泥炭土生物濾床去除畜牧業，水產加工業及食品醱酵業之脫臭成果國內外均有報導。最早利用生物濾床法進行脫臭處理始於1953年，美國加州長堤下水道臭味即藉土壤層過濾法而除臭。嗣後，1964年歐州瑞 士首先應用生物濾床處理畜牧堆肥場之惡臭氣味。1970年至80年代歐美及日本各國相繼利用生物濾床法去除禽畜堆肥，動物屍骨處理場，污水場及垃圾處理場所產生之硫化氫、硫醇類、氨及甲基胺等臭味物質，均達到相當程度之效果。生物濾床去除臭味之理論機制探討方面，sublette 等人[14]分別發表一系列有關利用泥炭土生物濾床去除硫化氫、甲硫醇、二甲基硫及二硫化二甲基等硫化物之生物脫臭反應，基本上係藉著好氧情況下將上述含硫臭味物質送入生物濾床系統中吸附於泥炭土表面，然後在適當含水量及pH條件下由好氣性之化學自營細菌如*Thiobacillus* spp[10,12]. 或化學異營細菌如*Actinomyces*、*Streptomyces*、*Corynebacterium*、*Xanthomonas*、*Hyphomicrobium*及*Pseudomonas* spp[9,13]將上述硫化物氧化爲硫代硫酸鈉，再轉變爲硫酸鹽類而除臭。Togshi等氏[15]曾探討利用泥炭土生物濾床去除氨氣，結果顯示不同種類之泥炭土對氨之吸附能力各異，大約10～20克氮/ 公斤乾泥炭土，當濾床接種硝化菌時，吸附在濾床內之氨才有硝化作用，其對氨之最大轉化率發生在硝化作用產生後48小時左右。Dragt 與Ottengraf[11] 曾以小型及模場堆肥濾床處理10ppm 氨之臭氣，在通氣量爲500m^3/m^2.hr 之操作條件下，小型濾床可將進流氣中濃度爲50ppm 之氨去除90％，而模場濾床亦可將進流氣中濃度爲10ppm 之氨去除90％。顯示對氨之最大去除能力分別爲2 及9g氮/m^3.hr。惟若濾床孔隙水份中亞硝酸及硝酸根含量超過0.45～0.5 mole/l時，微生物對氨之硝化作用則受抑制，氨去除率降至60％以下。此外Verhagen等氏[16]亦曾發現土壤生物濾床中之化學自營硝化細菌與化學異營細菌*Arthobacter globiformis* 對氨氮具有競爭作用，換言之，在有機態氮(如甲基胺)含量較高存在下，化學異營細菌在好氣情況下氧化甲基胺爲氨態氮，然後化學自營細菌如*Nitrosomonas* 及*Nitrobacter*等硝化細菌則與上述化學異營細菌分別氧化氨態氮爲硝酸態氮而除臭。國內方面，周明顯與許文仁[2]曾以生物濾床處理含甲基胺臭氣之操作性能研

究，發現甲基胺在生物濾床中微生物轉化爲氨氮後，再氧化爲亞硝酸及硝酸。在生物濾床pH爲中性。含水率55%時，微生物對氨氮之每天最大硝化速率爲0.113 克氮/公斤乾濾料。周明顯、黃俊傑、鄭文熙等氏[3]曾以模場生物濾床處理排氣中硫化物操作性能研究發現以一套二段式生物濾床(充填牛糞堆肥混合碳酸鈣)處理進流濃度爲19.3ppm 之硫化氫氣体，在硫化氫平均負荷2.2g.H_2S/m^3.hr 下，可使出流之硫化氫濃度降至1.8ppm，去除率達90.7%。此外，鍾美華、張鴻鈞、黃思尊等氏[7]亦曾以雞糞培養土生物濾床應用於水產下腳料業去除揮發性臭味之研究，其除臭率可達95%以上，去除能力爲25g vocs/m^3.hr。

利用生物濾床去除工業臭氣之研究鮮少報導，主要原因可能與工業廢氣中常含有較難生物分解或具有生物毒性之揮發性化合物如苯、甲苯、二甲苯、烯類。氯烯類或有機醇、酮、酸類等，這些化合物一般不易被生物轉化分解，若在高濃度時可能會抑制微生物活性，降低處理效率[5]。惟根據國外研究文獻顯示自然界中(土壤或活性污泥)存在某些微生物對上述化合物具有生物分解作用。例如*Pseudomonas aeruginosa* 與*Chromobacterium* sp.能夠分解甲苯、二甲苯[8]及acetonitrle；*Xanthomonas campestris* 能夠分解三氯乙烯[17]，*Arthobacter* sp. 分解苯，甲苯及二甲苯等。因此，利用泥炭土生物濾床處理石化工業臭氣仍有其適用之可行性。因爲泥炭土中含有多樣化之微生物族群，若經適當環境之馴養或接種特殊菌源(添加活性污泥)，當可發揮去除工業廢氣惡臭之功能。

本研究計畫目的擬利用泥炭土生物濾床法處理大社石化工業區內逸散至大氣中之惡臭物質(尤其針對綜合污水處理場之調勻池與曝氣池)，探討各種臭味物質，含硫、含氮、有機酸類、丙烯睛類在生物濾床中之吸附，轉化等傳輸現象，並闡釋其除臭機制。同時瞭解其他工業廢氣如苯、甲苯、二甲苯及氯烯類在生物濾床中之命運及其對除臭效率之影響。此外，擬改變生物濾床之含水量、pH、粒徑大小、密實性(孔隙度)、反應溫度、及各種臭味物質進流濃度及流量，探討其對除臭率之影響，並估算其單位容積或重量生物濾床對各種臭味物質之最大負荷量，並求出反應動力模式以供未來現場實際應用之參考。最後擴大本研究成果擬在工業區現場(以污水處理場爲例)裝置一套泥炭土生物濾床系統實際操作處理臭味，評估其除臭效率及經濟可行性。徹底解決石化工業之臭味問題。

惡臭氣味之控制技術

有關惡臭氣味控制技術一般可分爲三大類，包括物理脫臭法(水洗、活性碳吸附、冷凝或大氣稀釋)、化學脫臭法 (藥劑吸收、化學吸附、燃燒、觸媒氧化及中和劑等)及生物脫臭法(土壤吸附、活性污泥法、酵素水解法)。其中物理脫臭法大多僅將臭味物質以某種擔體直接吸附或以水或空氣爲介質將臭味物質稀釋而減除臭味，就臭味物質而言並無進一步轉化而脫臭，因此若臭味物質再自固体吸附劑上脫附時，則惡臭再現，同時以水或大氣稀釋惡臭亦需大量稀釋，不合乎經濟且又有兩次污染 (惡臭物質溶於水中) 之慮；化學脫臭法雖具有顯著脫臭效率，尤其是以焚燒或觸媒氧化法處理高濃度惡臭物質，但需耗費較高能源及處理成本，若用來處理中低濃度之臭味物質則不甚合乎經濟效益。其他如化學藥劑吸收或吸附法則常有廢液需再處理之麻煩。至於生物脫臭法則係將惡臭物質先以固相(土壤或其他固體介質)吸附，再藉生物轉化

作用將惡臭物質氧化或還元爲無臭物質而徹底除臭。本法具有處理成本低廉，可再生利用，無二次污染之慮，基本上適宜處理中低濃度惡臭物質。

生物脫臭技術之原理、設計與操作

一、 生物脫臭技術之原理及型態

生物脫臭技術之基本原理係將氣態之惡臭物質先以固相(土壤、堆肥、木屑或其他固體介質)吸附或溶於液相(通常是水)中，再藉固相或液相中之微生物對惡臭物質進行氧化或還元作用轉化爲無臭物質而徹底除臭。生物脫臭技術一般可分爲三種型態:1.生物洗滌法(活性污泥脫臭法)，2.生物滴濾塔法，3.生物濾床法。生物洗滌法主要利用廢水處理系統中之曝氣反應，使廢水中活性污泥之微生物將廢水中臭味氧化而除臭(圖一);生物滴濾塔法(生物膜法)係利用以樹皮、木屑、卵石或活性碳等爲載體，然後將含臭氣之廢水流經上述載體，藉著廢水中生物膜著生於載體表層之生物氧化作用而除臭(圖二);生物濾床法則先以木屑、堆肥或土壤(濾料)配製成一定厚度之填充層做爲生物濾床，將含有臭氣之氣體以適當速度通過濾床，然後藉著濾床中之固相吸附與生物轉化作用而除臭(圖三)。上述三種生物脫臭法中以生物濾床法最爲簡便 ，再生性及其處理費用低廉，頗値得推廣與應用。[1,6]

二、 生物濾床之設計及重要操作參數

(一) 濾材種類：

生物濾床法中最主要之一環爲濾材之選擇，因爲本法之成敗端賴濾床中之生物活性。同時臭味成份係被吸附於濾材之表層或其含水膜層。因此，濾材之粒徑大小(particle size)及其比表面積(specific surface area)大小變成非常重要之設計條件之一。一般木屑、堆肥或泥炭土經粉碎過篩後獲得直徑0.2～2mm不同粒徑大小之顆粒濾材，其比表面積約在1~20m^2/g，遠不如黏土礦物(100~200m^2/g)或活性碳(500~ 1200m^2/g)，但濾材之粒徑若太小， 雖有助於比表面積之增加，但相對地降低濾材顆粒間之孔隙率，阻礙氣體通過速率。同時黏土礦物或活性碳又無法提供微生物所需之足夠養分。因此優良之濾材應具備下列條件：1.富含微生物及養分，2.適當之粒徑大小(比表面積)，3.良好保水能力及吸附能力，4.適當之孔隙率(通氣性)，5.本身無臭，6. 價格便宜及取得容易等。因此，很少有一種單一濾材能滿足全部要求。通常需兩種以上之濾材摻配使用。根據國內外研究結果一致認爲以鋸木屑，各種型態堆肥(垃圾、豬糞、樹皮)或泥炭土再加上惰性填充物質(inert material)可組合一套十分理想之濾床。

(二) 濾床之理化生物性質：

濾床之理化性質(以濾床含水量及pH最重要)影響臭味在濾床中之吸附及轉化作用甚鉅。例如濾床之水份若低於最大飽和含水率之10%以下則濾床可能僅具吸

附作用，在此低含水量下濾床中之微生物活性很低，生物轉化作用幾乎無法運作，而潮濕之濾床(最大飽和含水率之50-60%)則兼具吸附及轉化功能，此時之濾床含水量其吸附臭味及生物除臭反應最佳，若濾床水份含量過高(80%以上)趨向於飽和狀態，則因濾床孔隙率降低，不但阻礙氣體流通且造成厭氣狀態，有礙生物轉化作用之進行。濾床之酸鹼度不但影響臭味物質在濾床中之吸附能力與解離度，而且改變濾床中微生物相及其活性。例如當濾床之pH爲酸性時，對揮發氨之吸附能力遠比pH爲中、鹼性爲大，蓋因揮發氨在酸性濾床水膜層中形成氨態氮(NH_4^+-N)而被吸附;在中、鹼性濾床則形成分子態氨(NH_3)而無法被吸附。但是，在酸性濾床中化學自營或異營之硝化作用則受顯著抑制，無法將NH_4^+-N氧化爲NO_3^--N，必須等到發揮氨在酸性濾床中所吸附形成之NH_4^+-N逐漸中和呈中性濾床後才開始揮發硝化作用，若整個生物濾床系統之氨吸附作用(NH_4^+-N生成量)與生物硝化作用達到平衡狀態，則氨之脫臭效率得以達到最高。若系統中之NH_4^+-N生成量高於硝化作用，則生物濾床呈鹼性(pH 9.0以上)，硝化作用再度受到抑制，整個濾床對氨之脫臭效果下降;另一方面，若生物濾床之硝化作用大於NH_4^++N生成量，此時濾床之pH逐漸下降而呈酸性，生物硝化作用再度停頓，此際即表示應當更換新濾材或再生。另就硫化物(硫化氫、甲硫醇、甲基硫化物等)而言，生物濾床之pH在酸性及中性條件下(pH4.0~7.0)均能顯現出有效之脫硫效果，因爲在上述pH範圍中，濾床內之化學自營菌(如*Thiobacills* sp)及一些化學異營(如*Actinomyces*、*Streptomyces*、*Thermoactinomyces*、*Coryebacterium*及*Micrococcus* sp.)均能有效氧化硫化物爲硫代硫酸鹽及硫酸鹽類而除臭，因此生物濾床之脫硫處理較不受pH所左右。濾床之生物特性包括微生物種類與數目將主導去除臭味物質之種類及濃度。例如一般以堆肥及泥炭土所組合之生物濾床對畜牧、水產加工及垃圾`處理業所產生之含硫、氮化合物及脂肪族有機酸、醛、酮類均有顯著除臭效果，但對塑膠及石化工業所逸散之苯類、烯類及含鹵素碳氫化合物則較差。因爲上述生物濾床中很少具有土生土長能夠分解這些頑強化合物之菌種，因此，在利用生物濾床系統去除工業廢氣時 ，應移植適量工業污水處理場中之活性污泥，以增強其生物分解能力而達到除臭效果。這種現象可由國外一些研究報告中獲得證實。

(三) 生物濾床之孔隙率與厚度:

如前所述，生物濾床濾材之粒徑大小及其含水量直接影響濾床之孔隙率，而濾床之孔隙率則直接影響氣體在濾床中之停留時間，氣體在濾床中停留時間之長短則繫乎去除率之高低。一般而言，若臭味物質在濾床中停留時間太短，其去除率不可能提升。因此，濾床之孔隙率及厚度亦屬生物濾床法中兩個重要設計參數，必須加以考慮留意。生物濾床之孔隙率 ε =Vp/Vm，其中Vp爲濾床中孔隙體積(立方米)，Vm爲濾料之總體積(立方米)，根據試驗結果顯示不同濾料之孔隙率各異,例如垃圾堆肥之 ε = 0.3-0.4，樹皮堆肥 ε =0.4-0.55，泥炭土 ε =0.7-0.85不等

，而孔隙率 ε 與氣體停留時間之關係爲 $t=H \cdot A \cdot \varepsilon \cdot 3600/\theta$，式中t爲停留時間(秒)，H爲濾床厚度(米)，A爲濾床截面積(平分米)，θ 爲氣體進流量(立方米/小時)。因此，若得知濾床厚度、截面積及氣體進流量，即可測知氣體停留時間。一般生物濾床體積設定大多以每單位濾床截面積之廢氣流量做爲計算基礎，一般均在每小時50~300立方米/平方米。例如廢氣流量爲每小時10^4立方米時，濾床截面積僅需200~30平方米即可，若停留時間一定，濾床體積不變，則濾床之尺寸(濾床厚度與截面積)即可求出。有關濾床之尺寸計算與廢氣進流濃度與組成無關。一般濾床厚度介於0.8-1.2米，亦有厚達6米。

(四) 生物濾床之效率(efficiency)與去除率(removal rate)：

生物濾床之兩個重要操作參數爲效率(efficiency，η)及去除率(removal rate，X)。前者係指進流氣體中污染物被濾床去除之濃度百分比。其計算公式爲 $\eta=(1-Co/Ci)\times 100\%$，式中Co爲廢氣出流濃度(毫克/立方米)，Ci爲廢氣進流濃度(毫克/立方米)。例如硫化氫之進流濃度爲100毫克/立方米，通過濾床後之出流濃度爲10毫克/立方米，則該生物濾床對硫化氫之效率爲90%。至於後者(去除率)則係指單位時間內，單位體積或重量濾料對廢氣污染物之去除量，它與效率 η 關係式爲：$X=\eta \cdot Ko$，式中Ko爲單位時間內定量體積或重量濾料對污染物之負荷量(克/立方米・天，或克/公斤・天)。因此去除率或效率不僅與氣體停留時間有關，亦與濾料對污染物之負荷量有關。隨著負荷量之增高，即使停留時間增長，濾床之去除效率亦顯著降低。因此，假設生物濾床爲一近似理想之管狀反應器，則生物濾床之效率可用下列數學式表示：$\eta=1-e^{-kt}$，式中t爲停留時間(秒)，k爲反應速率常數(1/秒)，式中k值可用來做爲比較不同濾料對污染物去除率之指標參數，亦可用來計算不同廢氣組成之生物分解速率。一般而言，k值愈大，去除效率愈高。表八及圖四即表示正丁醇、二甲苯、三氯甲烷、硫化氫及氨等不同污染物之生物濾床分解動力學常數。

(五) 生物濾床之設計模式

生物濾床之設計一般分爲開放式濾床系統與密閉式濾床系統兩種模式(圖五)，前者以土壤濾床爲主，其優點爲裝置及操作費用低，技術簡易，但亦有更換濾料花費較多，需要大面積土地，效率易受不定情形(氣候因子)所影響，若不裝設底盤，可能會造成地下水污染之慮。密閉式濾床系統則以密閉之塡充塔或貨櫃式系統爲主，比起開放式土壤濾床系統，它具備許多優點：如濾料容易更換，濾料之理化、生物特性易於控制，不受氣候因子所左右，不會產生地下水污染，本系統可以串聯操作及裝置費用低廉。唯必須特別注意之處爲濾床內部表面之塡充塔或貨櫃材質要用耐酸、鹼、腐蝕之塑膠或金屬製品，並裝設有孔且軟質之圓管，用來加水噴灑濾床表面，維持濾床之適當含水量。

結　論

生物濾床去除農、工業廢氣(臭味及毒性物質)雖然是一門較新之生物處理技術，經由實驗及模場試驗發現發現其功能不下於其他各種處理方法。若選用適當之濾床，生物濾床不但可處理含硫、含氮之臭味物質，而且對疏水性之毒性物質如苯、烯、含氯碳氫化合物亦有良好之去除效果。若能進一步改良生物濾床之各項設計及操作參數，更能提高其處理效率及減低處理成本，未來生物濾床在環境工程上之應用領域必更爲寬廣。

參考文獻

1. 江晃榮、春田一吉 1991 微生物脫臭裝置之開發與應用。中華民國環境工程學會第16屆廢水處理技研討會 451～462頁。
2. 周明顯、許文仁 1993 以生物濾床法處理含甲胺臭氣之操作性能研究。第十屆空氣污染控制技術研討會論文集 69-77頁。
3. 周明顯、黃俊傑等 1993 以模場生物濾床處理排氣中硫化物之操作性能研究。第十屆空氣污染控制技術研討會論文集 99-102頁。
4. 高銘木 1993 石化工廠附近大氣臭味問題特徵之研究。國科會專題研究報告 34頁。
5. 張淑芬、黃思專、鄭鴻鈙 1993 生物脫臭技術適用性評估方法。第十屆空氣污染控制技術研討會論文集 501-508頁。
6. 劉春木 1991 微生物脫臭技術的現況與展望。工業污染防治 第37期81～95頁。
7. 鍾美華、張鴻鈞、黃思專 1993 生物濾床脫臭技術在水產下腳料業之應用。第十屆空氣污染控制技術研討會論文集 79-86頁。
8. Alvarez, P. J. J., and T. M. Vogel. 1991. Substrate interactions of benzen, toluene, and para-xylene during microbial degradation by pure cultures and mixed culture aquifer slurries. Appli. and Envivon. Microbiology. 57：2981-2985.
9. Cho, K. S., M.Hirai and M. Shoda. 1992. Degradation of hydroger sulfide by *Xanthomonas* sp. strain DY44. Isolated from peat. Appl and Environ. Microbiology. 58：1183-89.
10. Cho, K. S.,L. Zhang, M.Hirai, and M. Shoda. 1991. Removal characteristics of hydrogen sulfide and methanethiol by *Thiobacillus* sp. Isolated from peat in biological deodorization. J. of Fermentation and Bioengineering. 71：44-49.
11. Dragt, A.J.,A.Jol., and S.P.P. Ottengraf. 1987. Biological elimination of ammonia in exhaust air from livestock production. Proc. 4th Eurpean Congress on Biotechology. vol 2, PP.600-603.
12. Furusawa, N., I. Togashi et al. 1984. Removal of hydrogen sulfide by a biofilter with fibrous peat J. Ferment. Technol. 62:589-594.
13. Hirai,M.,M.Ohtake, and M. Shoda. 1990. Removal kinetics of hydrogen sulfide ,methanethiol and dimethyl sulfide by peat biofilters. J.Ferment. Technol 70:334-339.

14. Sublette,K.L 1987. Aerobic oxidation of hydrogen sulfide by Thiobacillus denitrificans. Biotechnology and Bioengineering. XXIX: 690- 695.

15. Togashi, I.,M. Suzuki,et.al. 1986. Removal of NH3 by a peat biofilter without and with nitrifier. J. Ferment. Technol.,64:425-432.

16. Verhagen, F. J. M., H. Duyts, and H. J. Leanbroek (1992). Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in continously percolated soil columns. Appli. and Environ. Microbiology. 58：3303-3311.

17. Wolfram, J.H.M.S.Nawaz and K.D. Chapatwala. 1989. Isolation and identification of microorganisms capable of degrading common laboratovy solvents. PP403-418. in Biotechnology Applications in hazardous waste treatment". by Lawandowsk G. et al. United Engineering Trustees. Inc. New York, NY.

18. Zhang, L., M.Hirai, and M. Shoda. 1992. Removal characteristics of dimethyl sulfide by a mixture of *Hyphomicrobium* sp. I55 and *Pseudomonas acidovorans* DMR-11. J. of Fermentation and Bioengineering 74：174-78.

表一 臺灣省固定污染源空氣污染物排放標準

空氣污染物	排放標準						換算常數		施行日期		測定方法
	排放管道			周界			A_1	A_2	新污染源	新存污染源	
	高度(公尺)	臭氣濃度 (1)	臭氣濃度 (2)	區域別	臭氣濃度 (1)	臭氣濃度 (2)					
臭氣或厭惡性異味	0-9	1500	1000	工業區	70	50	—	—	1.標準(1)自公告日起施行。 2.標準(2)自79年7月1日起施行。	1.標準(1)自公告日起施行。 2.標準(2)自82年7月1日起施行。	官能測定法
	9-18	4500	3000	工業區以外地區	20	10					
	18-30	13500	9000								
	30-55	45000	3000								
	5以上	75000	55000								

表二. 在廠地周界線上的管制基準
單位：ppm

惡臭物質	環境廳	東京都 工業專用地域 工業地域 準工業地域	東京都 其他地域	我國 排放周界管道 ppm
氨　氣	1-5	2	1	1
甲硫醇	0.002-0.01	0.004	0.002	0.01
硫化氫	0.02-0.2	0.06	0.02	0.1
二甲硫	0.01-0.2	0.05	0.01	0.1
三甲基胺	0.005-0.07	0.02	0.005	0.02
二硫化二甲基	0.009-0.1	未管制	未管制	甲醛 0.2
乙　醛	0.05-0.5			
苯乙烯	0.04-2			

表三 各種污染源之惡臭物質

污染源	物質	法定惡臭8物質														
		硫化氫	甲硫醇	二甲硫	二甲基二硫	氨	三甲胺	乙醛	苯乙烯	碳化氫類	酮、醛類	醇類	酯類	氯化物	硫化物	低級脂肪酸類
畜牧產業	養豬業	●	●	■	■	■										●
	養牛業	●	●	■	■	■										●
	養雞業	●	●	■	■	●	●							■		■
飼料、肥料製造工廠	複合肥料製造工廠	■	■	▲	▲	●	▲									
	魚腸骨處理場	●	●	■	▲	▲	●				■	▲		■		▲
	獸骨處理場	●	●	■	■	■	●				■	▲	■			▲
	雞糞乾燥工場	●	●	■	■	●		■								▲
	皮革處理場	●	●	■	■	■	■	■			●	▲		■		
食品製造工廠	咖啡製造工場	▲	●	▲	▲			▲			▲				●	
	畜產食品製造工廠	■	▲			▲					▲	▲				▲
	水產食品製造工場	●	▲			■	●							■		
	調味料製造工場	▲	▲								▲	▲	▲		●	
	物工場	■														
	麵包、點心製造工廠										▲	▲				
	製茶工場										■	■	■	■	■	
	澱粉製造工場	●	▲											■		●
化學工廠	石油製造工場	■	●	■	■	■				●					■	
	焦炭製造工場	■				■		■		■	■					
	紙漿製造工場	●	●	●	●					●					■	
	玻璃紙製造工場	●														
	化學肥料製造工場					●										
	無機化學工業製品製造工場	▲				▲									▲	

表四. 各種污染源之惡臭物質(續)

物質		法定惡臭8物質														
污染源		硫化氫	甲硫醇	二甲硫	二甲基二硫	氨	三甲胺	乙醛	苯乙烯	碳化氫類	酮、醛類	醇類	酯類	氯化物	硫化物	低級脂肪酸類
其他	廢棄物處理場	●	■	■	▲	■		■	▲	■	■	■	■	■	▲	▲
	污水處理場	●	●	■	▲	■				■	■			■		
	糞尿處理場	●	●	●	■	●							■	■		■
	火葬場	■	▲	▲	▲	■	●	■	■	▲	▲	▲	■	■		
	畜牧場	●	●	■	▲	■	■				▲		■	■		■
	屠宰場	●	●	■	▲	■	■	■			■	▲	■	■		■
	醫院、診療所.檢查中心	■	▲			■						▲				
	洗衣店、洗滌工場															
	飲食店	▲				▲		■								
	照相管、顯像所					▲										
	加油站									●						
	丙烷瓦斯灌裝處									■					●	
	旅管、大飯店	▲				▲										
	美容院、理法店					●				▲						
	廢品回收業	■	▲			■				■		▲				▲
	汽車修理工場									●	●		●			
移動發生源	汽車、卡車							●		●	●			■		
	航空機							●		●	●			■		
建設作業現場										▲	■					
下水、用水		●	▲	▲	▲	▲										
垃圾堆積場		■	■	▲	▲	■	■	■		■	■	■	■			▲
個人住宅		■	■	▲	▲	■		■								

■‥‥‥‥‥可測定檢出的物質
▲‥‥‥‥‥可能檢出的物質
●‥‥‥‥‥造成惡臭的物質

表五、大社石化工業區大氣臭味分析(惡臭官能測定法)

採樣點	臭味濃度(Y)						
	81/11/15	12/15	82/1/29	3/27	4/30	5/14	6/25
曝氣池	70	55	76	138	1303	185	341
中纖	10	10	10	17	12	10	7
圓環	22	10	30	17	50	20	7
台橡	25	23	26	35	68	40	55
中興橋	22	10	30	7	17	25	20
中化	15	12	23	10	28	18	22
優品	20	13	20	7	23	17	6
中鼎	10	10	10	30	25	19	55

(註)：

第一次採樣：81年11月15日上午10時至12時，天氣晴，相對濕度85%，25℃，西北風，風速15～2.0米／秒。

第二次採樣：81年12月15日上午10時至11時30分，天氣晴，相對濕度80%，20℃，西北風至北風，風速3.0～3.5米／秒。

第三次採樣：82年1月29日上午10時至11時30分，天氣晴，相對濕度70%，15℃，北風，風速2.0～3.0米／秒。

第四次採樣：82年3月27日上午10時至下午4時30分，天氣晴，相對濕度77%，23℃，西北風至北風，風速1.5～2.5米／秒。

第五次採樣：82年4月30日上午10時至下午5時，天氣陰，相對濕度82%，30℃，西南風，風速2.0～3.0米／秒。

第六次採樣：82年5月14日上午11時至下午4時30分，天氣晴，相對濕度79%，32℃，西南風至南風，風速1.0～3.0米／秒。

第七次採樣：82年6月25日上午10時至下午3時30分，天氣晴，相對濕度80%，33℃，西南風至南風，風速1.0～3.0米／秒。

表六a. 大社石化工業區大氣臭味分析(儀器測定法)

臭味物質	臭味物質濃度(ppm)							
	82/3/27				82/6/25			
	曝氣池	圓環	中興橋	中鼎	曝氣池	圓環	中興橋	中鼎
丙酮	7.35	ND	ND	ND	3.42	ND	ND	ND
醋酸	0.77	2.35	ND	ND	0.41	3.18	3.30	3.08
氨	1.77	ND	ND	ND	0.48	ND	ND	ND
苯	8.83	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
丁二烯	4.82	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
丙烯晴	10.70	ND	ND	ND	383.67	0.68	ND	0.95
甲醇	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
甲基胺	6.30	ND	ND	ND	12.93	ND	ND	ND
甲硫醇	9.36	ND	5.73	ND	37.27	ND	ND	ND
甲苯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
氯乙烯	3.08	ND	ND	ND	7.12	ND	ND	ND
二甲苯	24.36	ND	ND	ND	13.95	ND	ND	ND
丙醇	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
二硫化碳	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
乙烯	ND	ND	ND	ND	4.92	ND	ND	ND

(註)：ND表示臭味物質測值低於儀器最低監測限值。

表六b. 大社石化工業區廢水處理場大氣臭味分析(紅外線光譜儀測定)

臭味物質	臭味物質濃度(ppm)			
	83/12/30		83/1/31	
	調勻池	曝氣池	調勻池	曝氣池
丙酮(3.7)	2.15	0.28	2.25	0.86
醋酸(0.3)	0.33	0.03	0.66	0.13
氨(0.7)	2.43	0.39	1.02	0.96
苯(2.2)	1.85	<0	2.66	5.98
丁二烯(3.9)	1.89	2.43	0.42	0.40
丙烯晴(0.6)	1.78	<0	2.10	2.47
甲醛(0.5)	0.73	<0	0.68	<0
甲基胺(1.9)	15.25	2.38	38.64	22.63
甲硫醇(1.5)	8.05	5.16	12.56	19.58
二甲基硫	1.82	<0	0.14	<0
二甲基二硫	<0	<0	<0	<0
甲苯(9.2)	3.58	1.67	0.32	<0
硫化氫	<0	<0	<0	<0
氯乙烯(0.8)	1.08	0.48	2.18	0.85
二甲苯(2.0)	0.55	0.15	0.63	0.18
丙醇(0.8)	1.23	0.41	1.44	1.14
二硫化碳(4.8)	5.89	4.56	5.43	7.45
乙烯(0.5)	1.52	<0	0.62	0.13

(註):臭味物質中( )內數值爲儀器最低有數檢測值，單位(ppm)

表七. 大社石化工業區之臭氣影響濃度(Ⅰ)

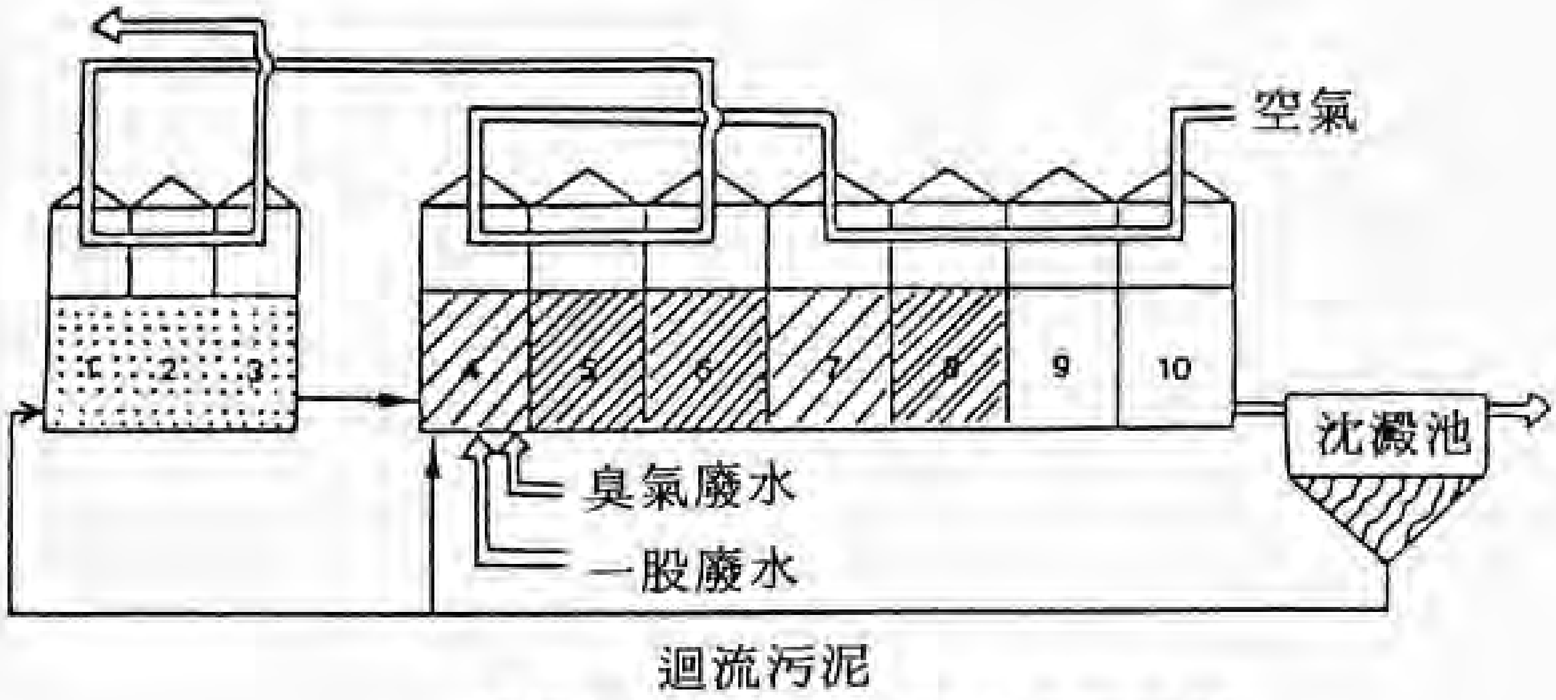
採　樣　點	臭氣影響濃度(Ⅰ)	
	82/3 /27	82/6 /25
曝氣池	17,386	69,265
圓環	31	43
中興橋	10,600	46
中鼎	0	41

(註)：臭味影響濃度(Ⅰ)計算公式如下：

C=Ci/Cbi，Ci爲臭氣濃度，Cbi爲臭氣嗅覺界限濃度。

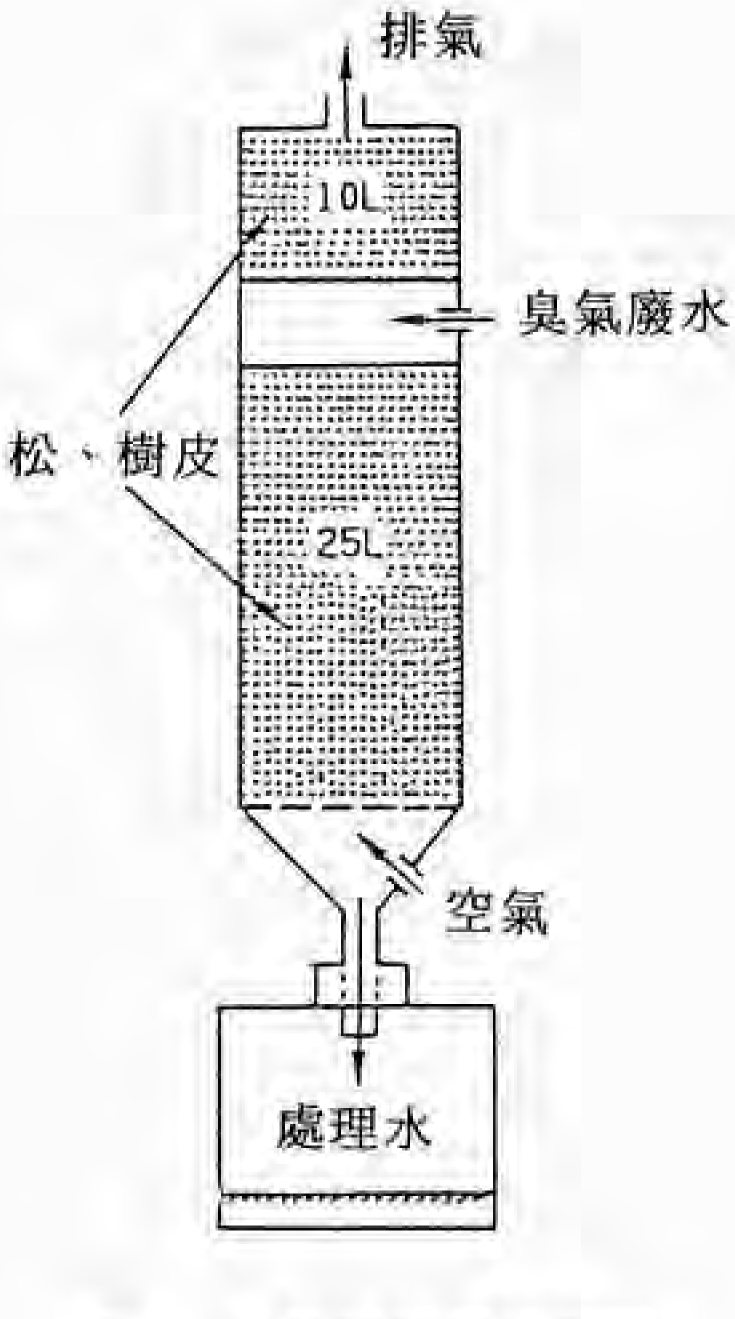
表八. 一些污染物之生物濾床分解動力常數

進氣成份	反應速率常數，K(1/s)		
	垃圾堆肥	細的樹皮堆肥	粗的樹皮堆肥
正丁醇	0.28	0.1~0.3	0.02~0.05
二甲苯	0.01	0.01~0.02	0.03~0.07
二甲基異丙胺	0.04	0.04	0.02
二氯甲烷		0.02~0.04	0.01~0.03
硫化氫		0.03~0.11	
氨		0.05~0.10	

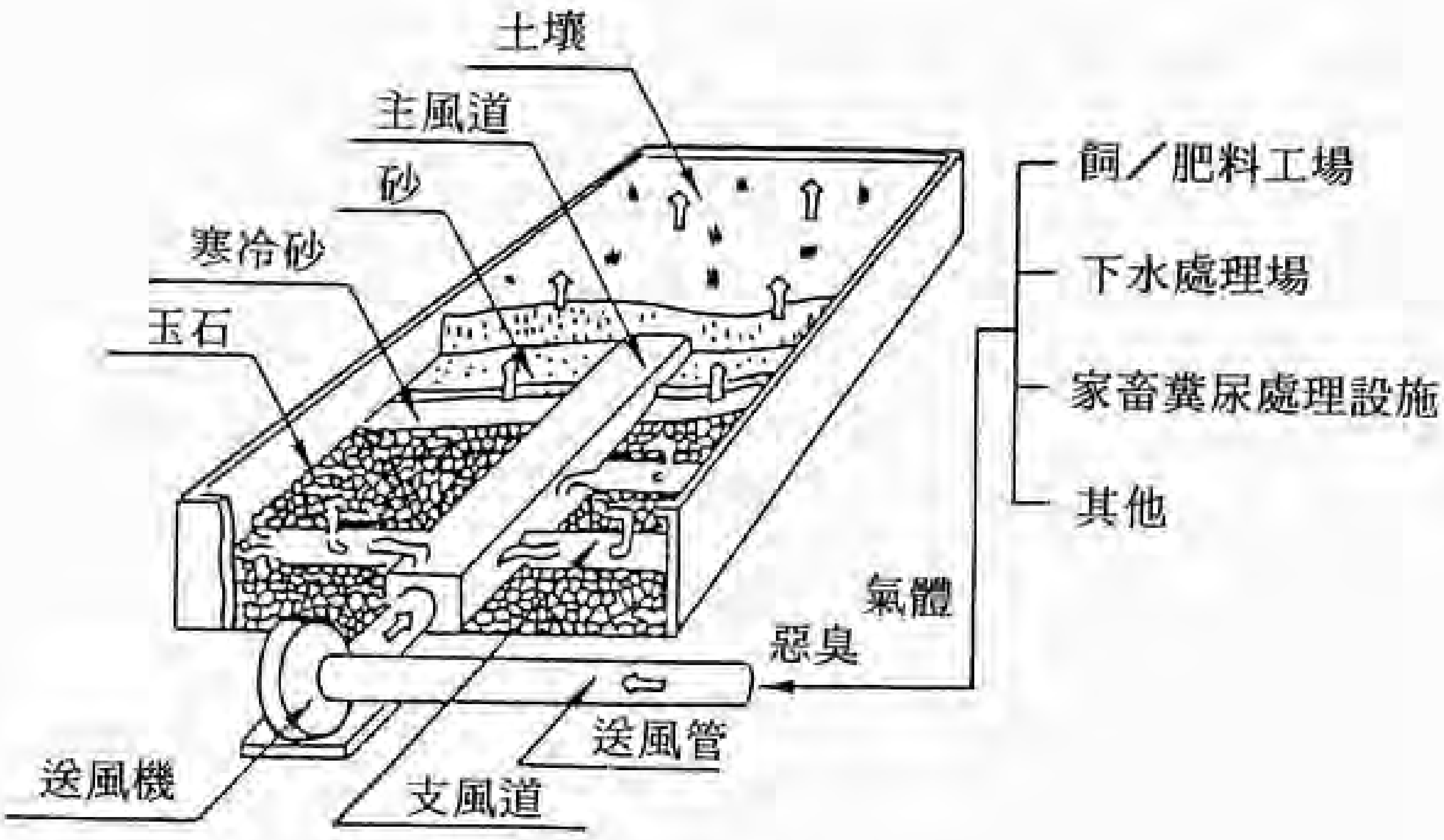


活性污泥法，臭氣廢水處理流程

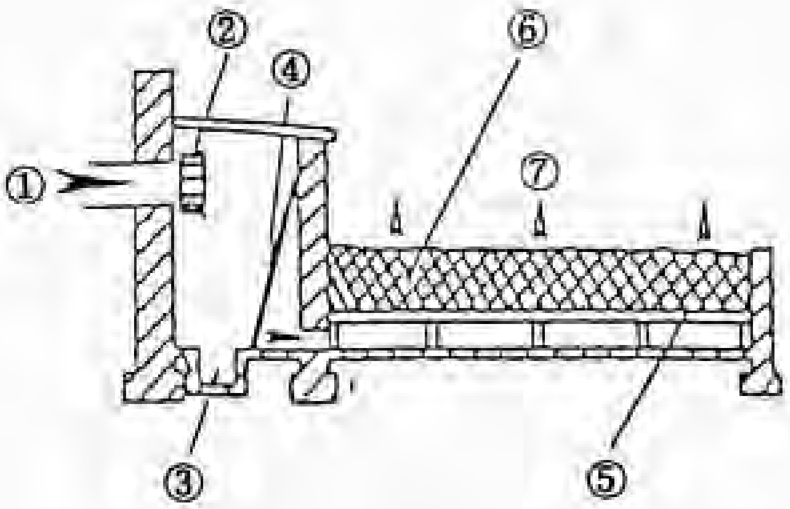
圖一. 生物洗滌法(活性污泥脫臭法)裝置



圖二. 生物滴濾塔法裝置



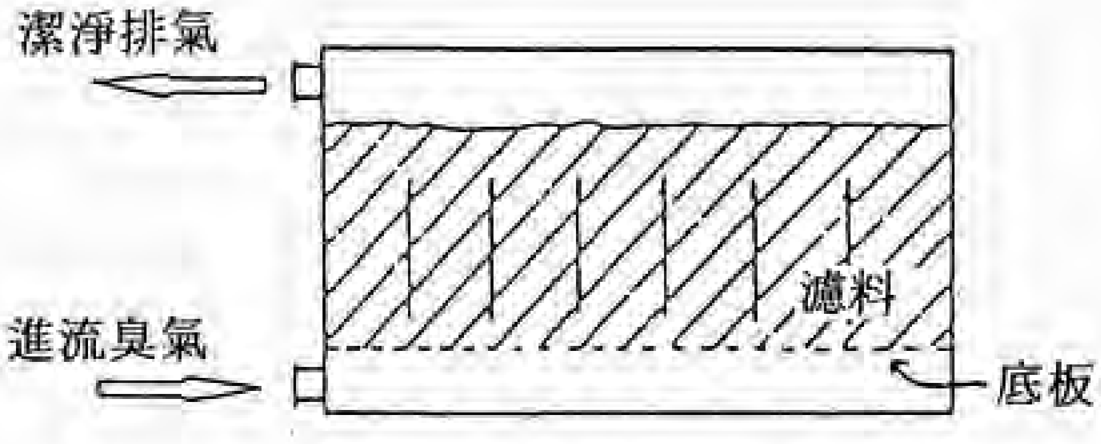
圖三．生物濾床法裝置



開放式生物濾床示意

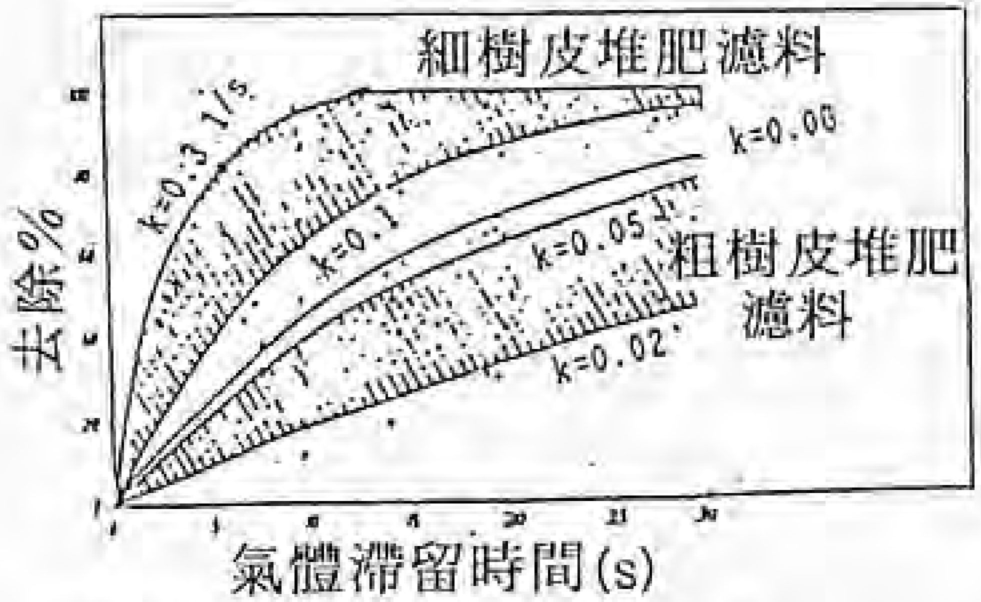
1. 進流臭氣 *2.* 抽風機 *3.* 集水溝

4. 濾塵片 *5.* 底板 *6.* 濾料 *7.* 潔淨排氣

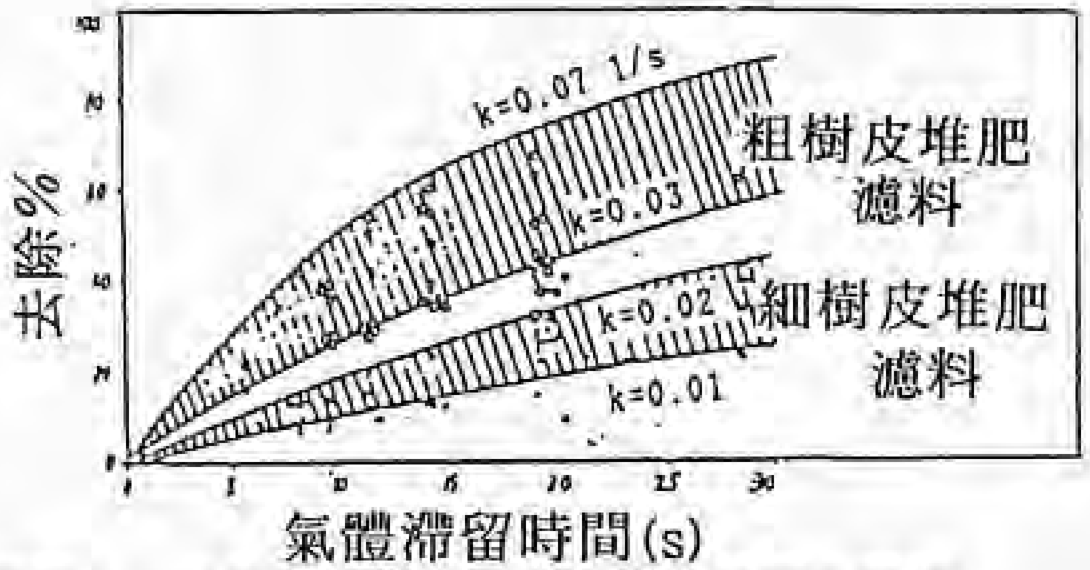


貨櫃式生物濾床示意

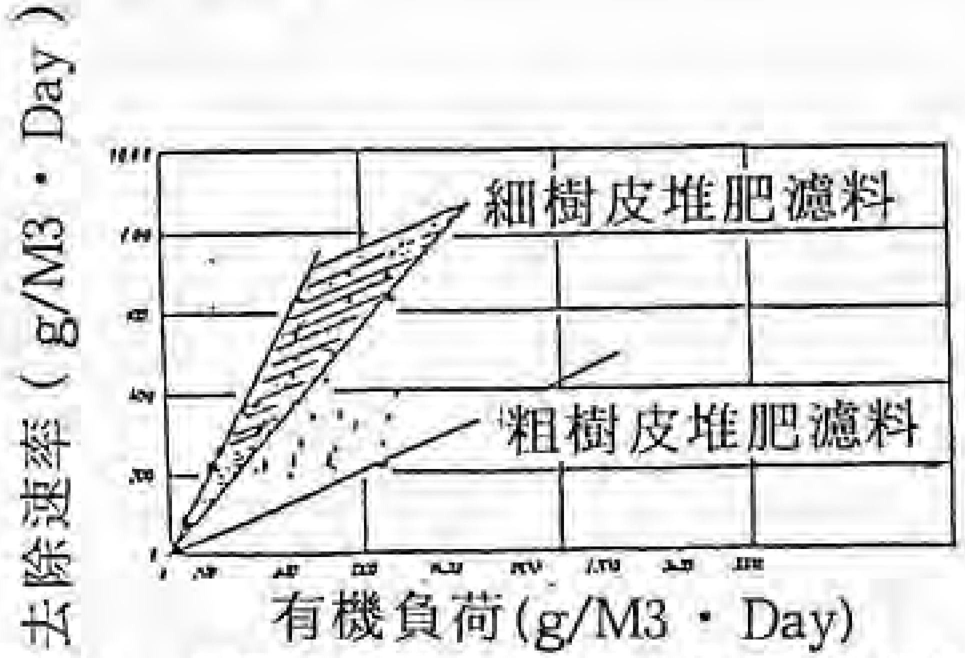
圖五．生物濾床法之設計模式



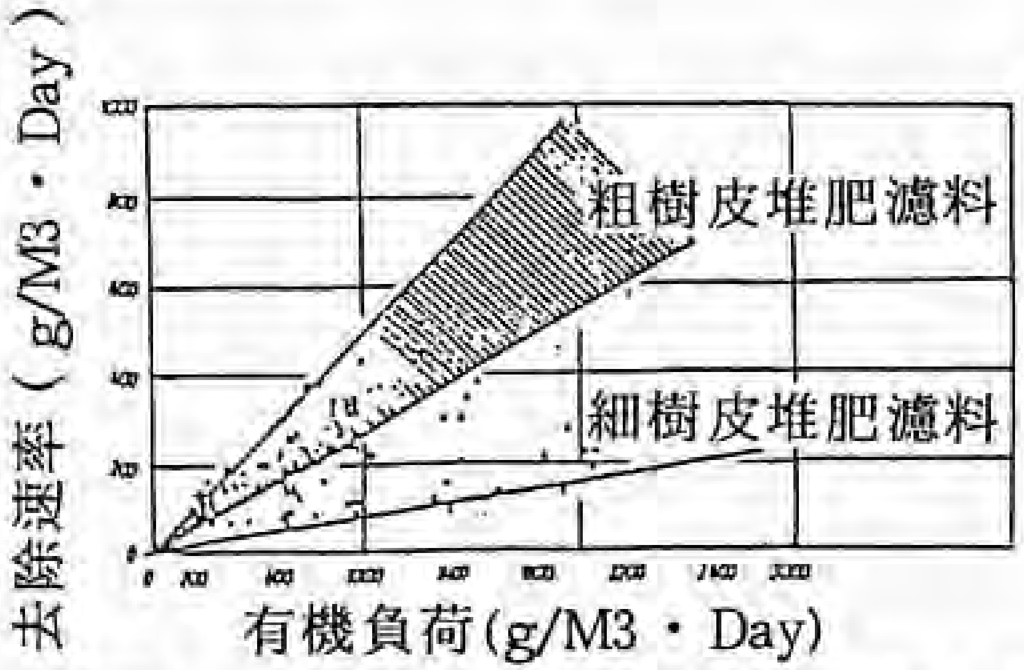
圖四 a　丁醇去除率與氣體滯留時間之關係
細樹皮堆肥濾料：0.1<k<0.3 1/s，粗樹皮堆肥濾料：0.02<k<0.05 1/s



圖四 c　二甲苯去除率與氣體滯留時間之關係
細樹皮堆肥濾料：0.01<k<0.02 1/s，粗樹皮堆肥濾料：0.03<k<0.07



圖四 b　丁醇去除速率與堆肥有機負荷之關係



圖四 d　二甲苯去除速率與堆肥有機負荷之關係

圖四　樹皮堆肥濾床對丁醇及二甲苯之去除率

快速腐熟堆肥製作之研究

黃啓民、陳文崇、張順榮、李松伍、王隆輝
台灣糖業研究所

摘　要

純豬糞渣以送風醱酵，三十天內即可被製成腐熟無臭味之有機肥。紙漿廠污泥，以傳統方法醱酵，分解緩慢，即使添加尿素或豬糞渣等，腐熟時間，長達六個月以上，但將污泥與豬糞渣以1:1混合，送風醱酵，約三個月即可製成腐熟之糞渣污泥有機肥。純蔗渣由於含大量纖維素及木質素，不易分解，以送風方式醱酵，仍需8～12個月始能腐熟，將酒精廢醪及豬糞渣等與蔗渣混合醱酵，腐熟時間可再縮短爲4～5個月。但蔗渣於田間直接堆肥化，仍是糖廠最經濟可行的蔗渣處理模式。

關鍵字：蔗渣、腐熟

前　言

豬糞尿固形物，蔗渣，濾泥及紙漿污泥等事業廢棄物，如未經適當處理，不但堆積佔空間，且因醱酵產生酸臭味，污染環境，造成事業的危機，如能將這類廢棄物堆肥化，製成腐熟無污染之堆肥，施用於蔗田，不僅可解決廢棄物的出路問題，且可改善土壤之物理性質，增加蔗作產量，其中蔗渣及濾泥等來自蔗田，經堆肥化後，回歸蔗田，十分自然。但各類廢棄物數量龐大，需探研快速腐熟良方，才能達到現場實際應用之目標。

送風確可加速堆積材料之腐熟[1]，豬糞渣經送風處理，三十天內即可被製成腐熟堆肥[3]，送風醱酵期間，不但臭味產生量少[4]，且產生之高溫，可消滅病原菌及雜草種子。蔗渣主要成分爲纖維素及木質素[2]，不易分解，且其氮磷含量低，需添加其他含氮磷量高之材料，方能加速其堆肥化。而控制溫度及材料之水分含量亦能提高堆肥化速率[6]。又接種分解效率高之特定菌株，雖可加速分解速率，但營造一個有利微生物生長的環境，更能加速堆肥化的進行[5]。

試驗材料及方法

一、模擬送風堆肥化試驗

將糖廠及畜殖場所生產的各類廢棄物，如蔗渣、豬糞渣、及紙漿廠污泥等置於體積120公升之模擬送風堆肥房內送風醱酵，以空氣壓縮機及微調流量控制閥等供給及控制氣體之流量，送風量爲0.025 vvm，將三支長60公分之溫度計，分別置於堆肥材料15，30及45公分處，每天測定其溫度，堆肥腐熟後，取樣分析其各項成份。

二、紙漿污泥之傳統堆肥化試驗

於屏東紙漿廠之堆積場內進行試驗，污泥每堆之尺寸爲長2公尺，寬1.5公尺及高1.2公尺，體積3.6立方公尺，共分爲四處理，皆不送風，處理A爲對照，處理B爲覆蓋塑膠

布，處理C爲覆蓋及添加0.3%氮，所用之無機氮爲尿素，處理D爲覆蓋及添加0.3%氮，所用之氮肥爲濃豬糞尿液，試驗期間爲6個月，期間共翻堆兩次。

三、 大型送風堆肥化試驗

於南州糖廠之構內畜殖場建造長5.2公尺，寬2.2公尺及高1.2公尺，體積約14立方公尺之送風堆肥房三座。底部有三條長5公尺之送風管，各送風管有兩排送風口，每排72個，管口向下，鼓風機產生之風由底部管路送出，送風量爲0.013 vvm，將豬糞渣，污泥，蔗渣等材料單獨或依不同比例混合，置於堆肥房中送風醱酵，每天記錄溫度之變化，最後分析堆肥成品之成分。

四、 污泥堆肥之生物試驗

以送風醱酵生產之污泥堆肥爲介質，進行育苗及毒害試驗，試驗分爲三處理，處理A爲純糞渣堆肥，處理B爲污泥混合糞渣之腐熟堆肥，處理C爲純污泥堆肥，各處理之介質，不混合土壤及化學肥料，以純堆肥爲介質材料，分別填入500立方公分圓柱形育苗杯內，進行木瓜及絲瓜育苗試驗，各處理六重複。

結果與討論

一、 送風對豬糞渣醱酵之影響

豬糞尿經固液分後之固形物，堆積於模擬送風堆肥房內，經送風處理後之第二天，溫度立刻上升至70°C以上(圖一)且可維持於50～70°C間達二星期以上。送風處理後第四天，表面即可發現白色菌絲。腐熟後，內部材料最後呈黑褐色，由於是好氣醱酵，分解完全，故無臭氣逸出，經17天處理，體積約減少了30%。翻動時，有許多眞菌孢子飛揚。醱酵分解期間有水分產生，如無適當排水處理，將對下層材料之分解有不良影響。反觀未通氣之對照處理，溫度未能超過60°C，且均維持於40～50°C之間。上層材料因可從空氣中獲取氧氣，分解效果佳，故其溫度高於中下層，檢視下層材料，發現大部份仍未分解，更因缺氧呈厭氣醱酵，而散發出難聞之臭味。送風處理豬糞渣，可於一個月內製得腐熟有機肥，較之傳統未通風處理糞渣堆積二個月以上，尚未醱酵完全，送風處理確可加速糞渣之腐熟。經送風醱酵後之豬糞渣堆肥(表一)，其碳氮比已降至12，而各要素成分皆因濃縮而升高，其全氮、磷酐及氧化鉀之含量分別爲3.2，3.1及0.4%。重金屬含量，以銅鋅含量較高，分別爲217及454 ppm，但與市售之有機肥料相較，仍屬合理，未來應減少飼料中之硫酸銅及硫酸鋅用量，如此，堆肥中之銅鋅含量，當可再降低。

二、 紙漿污泥之堆肥化

以紙漿污泥爲堆積材料，添加尿素或豬糞尿，以傳統不送風堆積法製造有機肥，結果如圖二，各處理之醱酵溫度均低，雖自第12週開始，醱酵溫度略有上升。但加入尿素，豬糞尿或覆蓋等處理之效應，均不明顯，此法之分解速率緩慢，有機肥製作所需之時間，長達半年。究其原因可能爲紙漿污泥含氮量低，故微生物活動不旺盛，又以傳統堆積方式進行醱酵，材料外部雖呈喜氣醱酵，但內部則因缺氧而呈厭氣狀態，有機物常

因分解不完全，而產生具臭味之氣體逸散，故此法無法將紙漿污泥迅速製成腐熟有機肥。

利用模擬送風堆肥房，探究污泥與糞渣不同容積比之醱酵溫度變化，結果如表二，純豬糞處理之醱酵溫度最高，而比值1:2之處理，溫度可維持於50～70℃間達三週之久。比值2:1之處理，其醱酵分解速率較慢，僅有一週之溫度可達50℃以上。純污泥之堆積，分解速率更慢，故合理之污泥與糞渣容積混合比， 應界於0.5與2之間。

今將紙漿污泥與豬糞渣，以容積比1:1混合，置於十四立方公尺之大型送風堆肥房內進行醱酵，結果如圖三，加入糞渣增加氮磷量之處理，其醱酵溫度維持於60℃以上，達五星期以上，經堆積送風處理8週後，其材料體積已減少45%，約三個月即可製成腐熟之糞渣污泥有機肥，與純紙漿污泥以傳統堆積法醱酵，需半年以上才能腐熟相較，此法確可縮短紙漿污泥之腐熟時間。所製成之有機肥成份分析如表三，糞渣污泥有機肥之氮、磷、鉀三要素含量及其他微量元素均優於純污泥有機肥，其碳氮比又較純豬糞渣有機肥高，故堆肥之品質有顯著的改善，將來可望利用豬糞渣，濾泥，紙漿污泥，及蔗渣等廢棄物，依不同比例混合，送風醱酵，製成多種不同碳氮比之有機肥，供栽培作物選用。

又將此有機肥用來培育木瓜及絲瓜苗，結果如表四所示，污泥混合豬糞渣之有機肥，木瓜苗生育情況最佳，優於純糞渣堆肥及污泥堆肥，分別達1%及5%顯著水準。對絲瓜苗生育而言，污泥混合豬糞渣堆肥與純糞渣堆肥處理，無顯著差異，但此二處理之絲瓜苗生育皆優於純污泥堆肥處理，達1%顯著差異。

三、 蔗渣之送風堆肥化

蔗渣水分含量變異頗大，新鮮蔗渣含水量可達46%，而堆積場之壓塊蔗渣含水量僅爲11%，其主要成分爲纖維素，木質素及重合五碳醣。將散裝新鮮蔗渣於模擬送風堆肥房中，送風醱酵，送風量爲0.025 vvm，其醱酵溫度可達45℃，最高可比氣溫高12℃，經8～12個月，可醱酵成爲黑褐色腐熟之有機肥。蔗渣堆肥化成份之變化如表五。碳氮比從堆肥化前之105降至堆肥化後之21，有機質含量亦從91%降至58%；腐熟堆肥之氮、磷及鉀之含量亦因體積減少而濃縮了，分別爲T-N: 1.22%，P_2O_4: 0.25%，K_2O: 0.49%。

將蔗渣與糖廠廢棄物如酒精廢醪，濾泥，污泥及豬糞渣等，依1:1的比例混合，送風醱酵，結果發現，豬糞渣，酒精廢醪及濾泥等確可加速蔗渣之堆肥化，其於120公升之模擬送風堆肥房中，溫度已可達55℃，而於14立方公尺之送風堆肥房中，蔗渣混合豬糞渣之處理，醱酵溫度(圖四)在50℃以上，持續六週之久，且最高溫達82℃。經十一週之醱酵，堆積材料之高度已有顯著之變化(圖五)，蔗渣混合豬糞渣之處理，堆積材料高度從120公分降爲50公分，材料體積約減少58%，材料顏色變爲黑褐色，而純蔗渣混合氮磷化肥之處理，堆積材料高度從120公分減爲90公分，其體積約減少了25%，材料頻色則呈灰黃褐色，如此經4～5個月之送風處理，即可製成腐熟之堆肥。

由模擬送風堆肥房及大型送風堆肥房試驗結果可知，將純蔗渣或蔗渣混以豬糞渣，酒精廢醪或濾泥等，皆可將蔗渣製成腐熟有機肥，但由於蔗渣含大量纖維素及木質素

等，分解緩慢，而糖廠開工期間，每天生產之蔗渣量，十分龐大，除充當燃料用外，尚有大量蔗渣節餘，等待處理。如以送風堆肥化的方式處理，除需建造大量送風堆肥房外，時間上實緩不濟急。較經濟可行的方法，應是"蔗渣田間堆肥化"，此方法就是將糖廠生產之散裝蔗渣，不經壓塊，立即運送至休閒蔗田犁入土壤後，種植綠肥，如此約一年內，蔗渣可腐熟爲有機肥，如欲立刻種植甘蔗等作物，需於基肥及追肥中多補充些氮肥，以彌補因微生物增殖所固定之氮量。施用蔗渣後宜種綠肥，一方面可供應氮素，另方面可作爲判斷土壤狀況之指標。蔗渣來自蔗田，再適當地回歸蔗田，以增加土壤有機物，提高土壤肥力，應是最自然且可行之農田利用方式。

結　　論

一、 於送風量0.025 vvm及自然接種之條件下，三十天內可將豬糞渣製成腐熟無臭味之有機肥。

二、 以豬糞渣混合紙漿污泥醱酵，可縮短污泥腐熟時間，且製成之有機肥，肥料成份優於純污泥堆肥。

三、 純蔗渣於模擬送風堆肥房內，經8～12個月之送風醱酵，可製成腐熟之堆肥。但加入酒精廢醪，濾泥及豬糞渣等於蔗渣中，可縮短其腐熟時間爲4～5個月。

四、 蔗渣田間堆肥化爲目前消納糖廠剩餘蔗渣的最佳方法，即將糖廠生產之散裝蔗渣，不經壓塊，立即運送至休閒蔗田，添加濾泥，酒精廢醪或豬糞渣等，犁入土壤後，種植綠肥，如此於一年內，蔗渣即可腐熟爲有機肥。

參考文獻

1. 林財旺 1989 送風管式豬糞堆肥製作。台灣省畜產試驗所推行養豬現代化經營示範計劃 1-7。

2. 袁嗣良、趙桂潮 1940 蔗渣堆肥之研究。台灣糖業試驗所研究彙報 6:207-225。

3. 黃啓民、李松伍、陳文崇 1991 豬糞堆肥化研究之新方法。中華生質能源學會論文專輯 p. 77-90。

4. Epstein, E., G. B. Willson, W. D. Burge, D. C. Mullen, and N. K. Enkibi. 1976. A forced aeration system for composting wastewater sludge. J. Water Pollut. Control Fed. 48:688-694.

5. Haga, K. 1990. Production of compost from organic wastes. Food and Fertilizer Technology Center for the ASPAC Region. Taipei on Taiwan. Extension Bulletin No. 311.

6. Sulfer, D. J., and M. S. Finstein 1977. Effect of temperature, aeration and moisture on CO2 formation in Bench-scale, continuously thermophilic composting of solid waste. Appl. Environ. Microbiol. 33: 345-350.

表一、豬糞固形物醱酵處理前後之組成份分析

項　　目	未醱酵前豬糞渣	經送風醱酵後豬糞堆肥	傳統醱酵之豬糞堆肥
pH　(1:5)	5.6	6.9	6.1
含水量(%)	66	70	72
有機質(%)	95	86	88
有機碳(%)	43	39	40
全　氮(%)	2.3	3.2	2.8
磷　酐(%)	0.8	3.1	2.7
氧化鉀(%)	0.2	0.4	0.3
氧化鈣(%)	1.2	3.4	3.6
氧化鎂(%)	0.3	0.8	1.1
鋅　(ppm)	128	454	371
銅　(ppm)	73	217	235
鎘　(ppm)	0	0	0
鉻　(ppm)	0	1.2	1.7
鎳　(ppm)	6.3	9.1	7.3
鉛　(ppm)	4.6	6.2	5.6
砷　(ppm)	0	0	0
碳/氮	19	12	14

表二、豬糞渣混合紙漿污泥之好氣醱酵

處理代號	容積混合比		溫度（℃）					體積減少
	污泥	糞渣	1週	2週	3週	4週	5週	（%）
A	1	0	27	28	24	20	24	13
B	2	1	43	51	33	25	28	20
C	1	2	67	58	51	41	35	33
D	0	1	68	65	64	49	25	42

表三、豬糞渣污泥有機肥之化學組成

項　　目	污泥有機肥		糞渣污泥有機肥	
	堆積前	腐熟後	堆積前	腐熟後
pH　(1:5)	7.38	7.43	7.18	6.83
含水量(％)	78.00	66.00	74.00	54.00
有機質(％)	62.50	38.40	78.50	49.80
有機碳(％)	36.70	19.20	45.30	29.20
全　氮(％)	0.94	0.90	1.46	2.30
磷　酐(％)	0.52	0.54	0.78	1.14
氧化鉀(％)	0.36	0.91	0.52	1.06
鋅(ppm)	41.00	44.00	95.00	106.00
銅(ppm)	16.00	28.00	87.00	98.00
鎘(ppm)	1.10	0.91	0.87	1.12
鉻(ppm)	25.00	22.00	16.00	24.00
鉛(ppm)	22.00	19.00	20.00	29.00
C/N	39.00	21.00	31	13

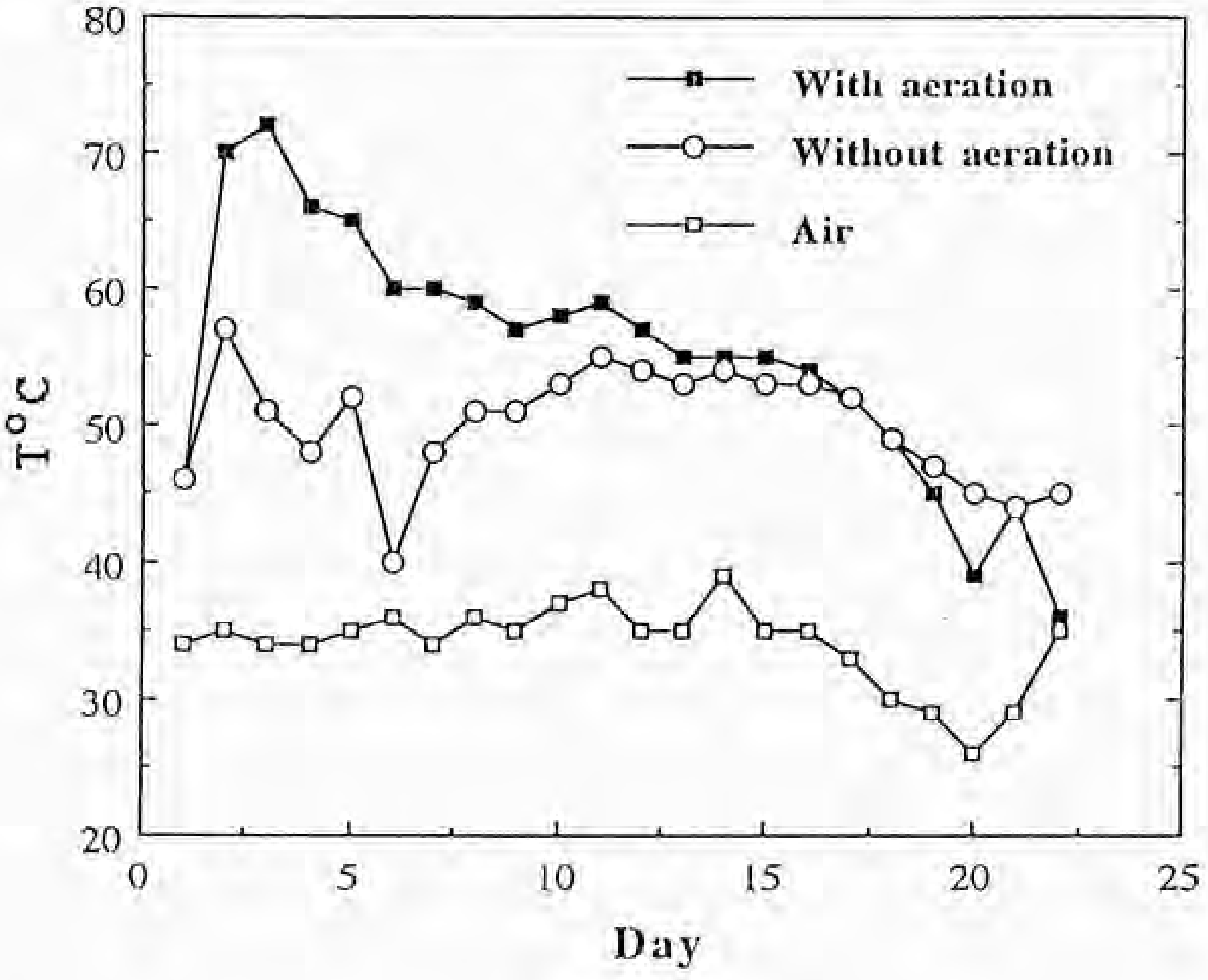
表四、不同堆肥介質對育苗生育之影響

處理	木瓜(公分)*			絲瓜(公分)*		
	高度	葉長	葉寬	高度	葉長	葉寬
A.純糞渣堆肥	3.13	1.73	0.99	23.0	5.6	7.2
B.污泥混糞渣堆肥	5.63	3.98	2.93	30.1	5.9	8.2
C.純污泥堆肥	4.04	2.31	1.37	6.5	3.9	4.4
L.S.D. 5%	1.08	1.31	1.29	9.0	0.8	1.0
1%	1.64	1.99	1.96	12.6	1.1	1.4

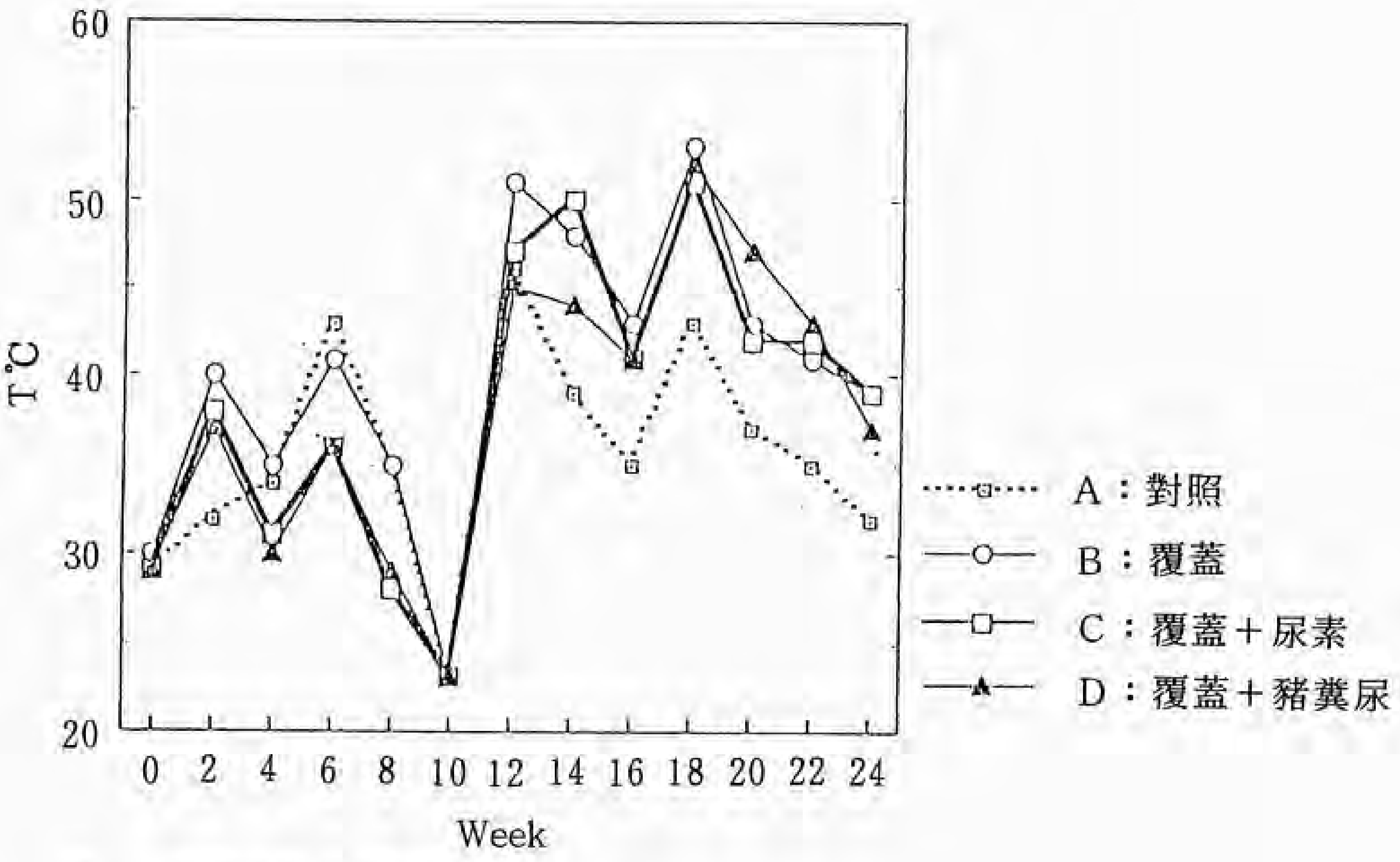
* 木瓜及絲瓜苗生長期四週時調查

表五、蔗渣堆肥化前後化學組成之變化

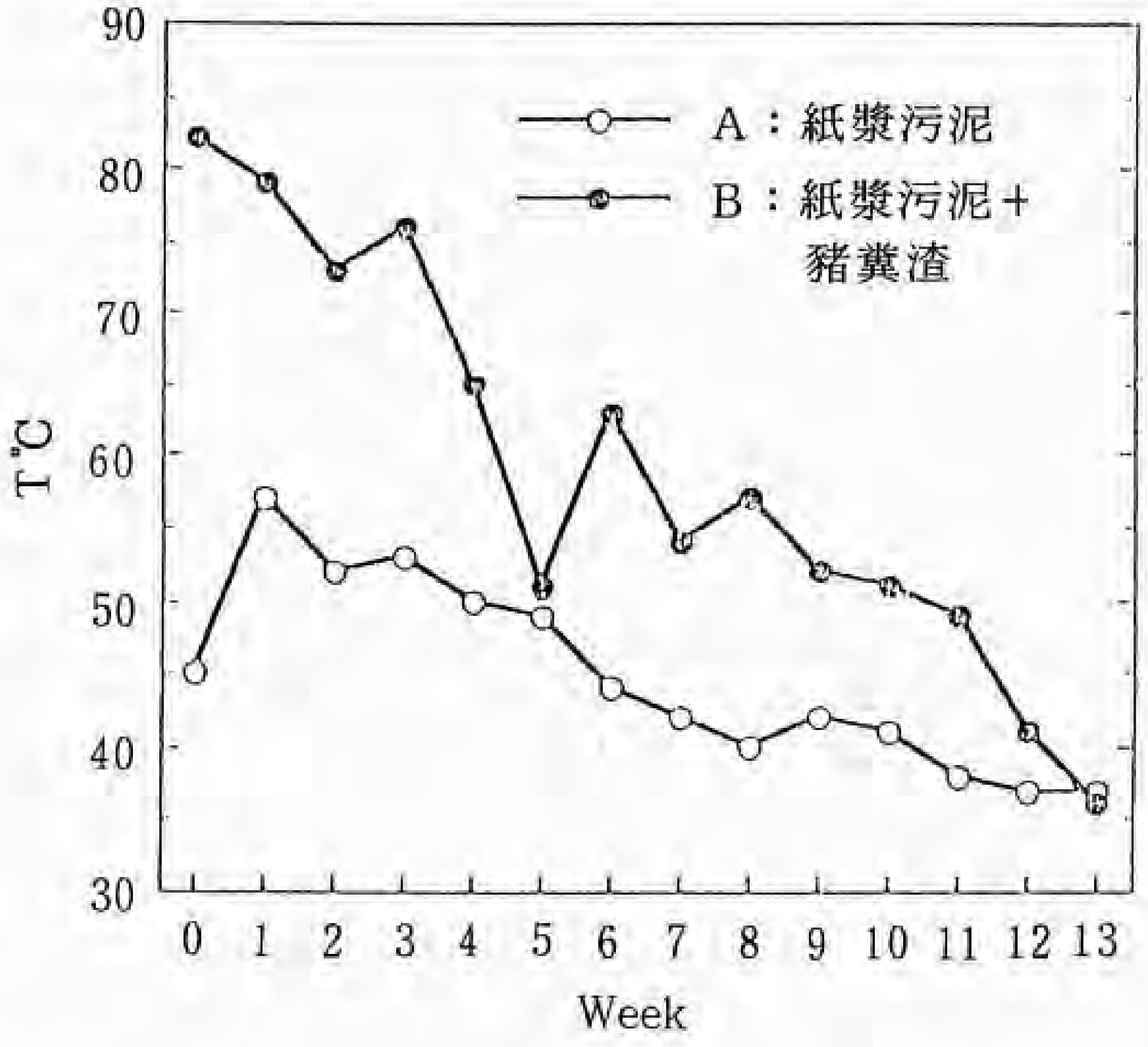
成　　份	堆肥化前	堆肥化後
含水量（%）	42	67
有機質（%）	91	58
有機碳（%）	41	26
全　氮（%）	0.39	1.22
磷　酐（%）	0.09	0.25
氧化鉀（%）	0.25	0.49
鋅（ppm）	29	226
銅（ppm）	9	36
鎘（ppm）	N.D.	N.D.
C/N	105	21



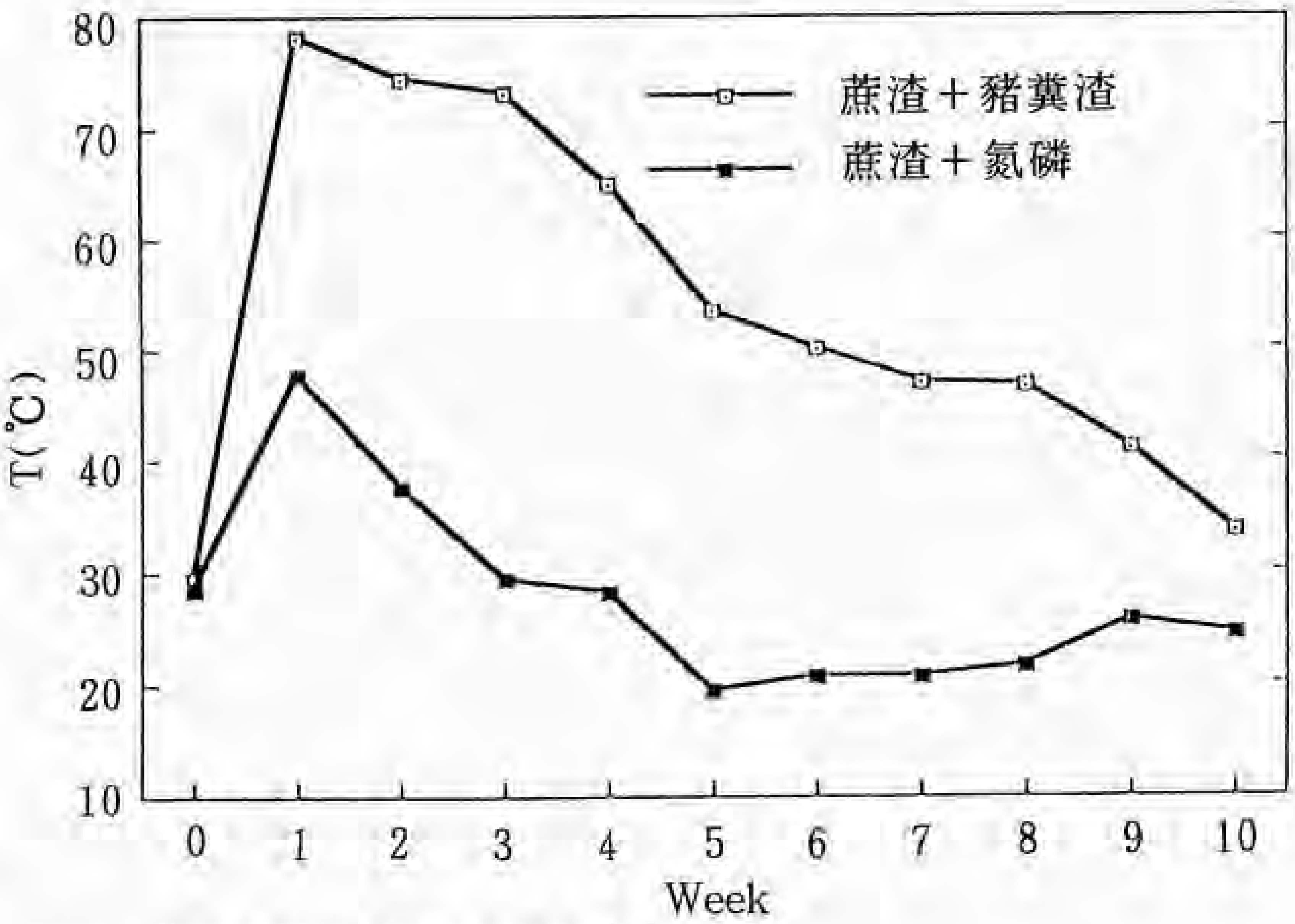
圖一、送風對豬糞渣醱酵之影響



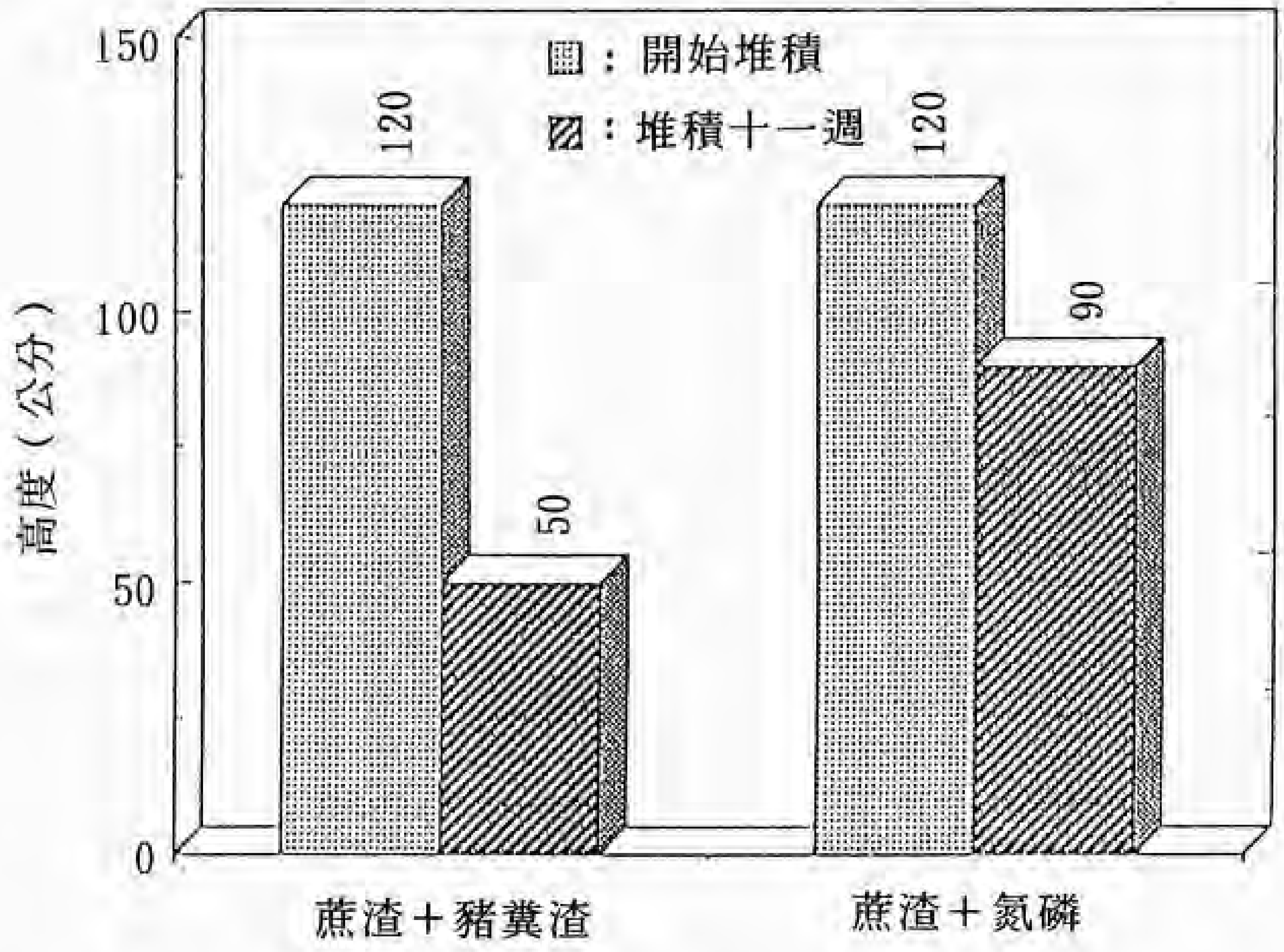
圖二、紙漿污泥之傳統堆積醱酵



圖三、添加豬糞渣對紙漿污泥送風醱酵之影響



圖四、蔗渣大型送風堆肥化溫度之變化



圖五、蔗渣堆肥化時堆積材料高度之變化

Rapid Composting of Bagasse

C. M. Huang, W. C. Chen, S. J. Chang, S. W. Li and L. H. Wang
Taiwan Sugar Research Institute

Abstract

It usually takes more than one year to complete bagasse composting by the piling methed due to the high content of cellulose and lignin in the sugarcane stalk. The composting period of bagasse was cut down to 8-12months by a forced-aeration system. The best ratio of air to bagasse was found to be 0.025 vvm on a volumetric basis. No offensive odors were released, and the peak temperature during composting was 45℃, which was 12℃ higher than that of air.

Composting is also hindered because fresh bagasse is rich in carbon but not in nitrogen. In order to further speed up the bagasse decomposition rate, substrates with a high nitrogen content such as soild pig waste or alcoholic slops were incorporated into the bagasse. bagasse was combned with soild pig waste or alcoholic slops at a 1 to 1 ratio. The mixed substrates maintained a temperature of 50℃ or higher for 6 weeks, and the temperature once reached 82℃ during fermentation in a 14 m3 composting house with a forced-aeration system. The volumetric loss was about 58% after composting for 11 weeks. Maturation of the compost of both bagasse-soild pig waste and bagasse-alcoholic slops occurred within only 4-5 months. However, the most economical way for sugar mills was the bagasse composting in the sugarcane field.

Key words：Bagasse, Composting

硝化抑制劑之利用

黃山內
花蓮區農業改良場

摘　要

硝化作用(Nitrification)係土壤中自營（大部份）與異營（少部份）性微生物之活動，將銨(NH_4^+)氧化爲亞硝酸(NO_2^-)及硝酸（NO_3^-)之過程。由於硝化作用之產物帶陰電性，容易移動流失，離開植物根圈，因而減低施肥效應，而其流入水體，能影響水質，更可引起脫硝作用(Denitrification)，形成氧化亞氮，污染大氣，破壞臭氧層。因此，抑制硝化作用爲土壤與環境氮素管理重要之一環。本文僅就硝化菌種類影響硝化作用之因素及一些硝化抑制劑作一般之介紹。

關鍵字：硝化作用、硝化菌、硝化抑制劑

前　言

硝化作用(Nitrification) 是一個將還原型態之銨態氮素生物氧化轉換成爲氧化型態亞硝酸與硝酸態氮素的過程，它是自然生態體系氮素循環中重要步驟之一。這個作用進行，在農業上雖有助於植物之氮素吸收，減少銨的毒害，但導致氮素肥料之淋失；於環境保護上，硝酸態及亞硝酸態之進入水體，引起優養化，影響生態之平衡；同時，飲水或食物中如含有過量之硝態或亞硝態氮，對人畜健康都有不良之影響。另一方面，在廢水及廢棄物處理統中，爲防止銨離子之累積毒害，則可利用硝化作用，將銨轉變爲亞硝及硝酸態氮，然後，再經脫硝作用，將之還原爲N_2而重新返回大氣中。

因此，瞭解硝化作用之機制及其受影響因素，進而予以控制或利用，減少負面效應，爲土壤氮素管理、環境保護及食品衛生上重要之一環。

硝化作用之微生物

硝酸態氮之形成，早在十四世紀即知曉，當時硝酸鈉或硝酸鉀之用途爲火藥與醃肉。1797年，英法戰爭，法國遭受禁運，他們用土壤、廏肥與石灰混合堆，然後用尿與污水澆灌，保持堆肥通氣良好，經過一段時間，再用熱水把硝酸鹽萃。但當時還誤以爲銨與氧經化學作用形成硝酸鹽。

1、　自營性微生物

硝化作用大部是指硝化菌之作用，包括二組化學自營菌氧化銨爲亞硝酸或亞硝酸爲硝酸，以獲取能量。目前之分類是基於古典的Sergej and Helene Winogradskg，以及最近Watson及其研究伙伴所得之結果，基本上以外形爲主，如考慮品系則以DNA對應及化學分類標識。

1. 銨氧化菌

Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosospira, Nitrosolobus, 與*Nitrosovbrio*,被認爲是銨之氧化菌。所有品系都葛蘭氏陰性微生物，絕對自營之嗜銨者，以二氧化碳爲碳源，但也可利用其他碳物同化爲有機物，生長適溫爲25～30℃，pH7.5～8.0，銨濃度2～10mM。世代時間後8小時至數日，可見其生長之緩慢。其氧化步驟之第一步，把銨藉酵素monooxygenase 之催化，氧化爲氫氧基胺(hgdroxylamine)，第二步再把氫氧基胺藉酵素hydroxylamine oxidoreductase之催化，氧化爲亞硝酸。其過程可獲約-65kcalmol^{-1}之能量，用以同化二氧化碳爲碳水化合物。

2. 亞硝酸氧化菌

Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospira 與 *Nitrospina* 被認爲亞硝酸氧化菌。屬葛蘭氏陰性，絕對自營生長於亞硝酸中，以二氧化碳爲碳源，祇有*Nitrobacter*可異營生長於簡單之有機化合物如丙酮酸、醋酸、及甘油。大部品系都生長於25～30℃，pH7.5～8.0，亞硝酸濃度2～30mM，世代時間從10小時至數日，與其他微生物比較也是生長慢之一族。

II、 異營硝化作用(Heterotrophic Nitrification)

一些異營細菌與放射菌能約在含NH_4^+栽培生長產成少量NO_2^-少數細菌品種爲*Arthrobacter*與眞菌如*Aspergillus Flavus*能從NH_4^+產生NO_3^-，異營作用並不能因氧化作用而取得能源。故他們在自然上之意義並不清楚。但經由異營菌產生的NO_3^-量少，在農業土壤上遠沒有化學自營菌重要。

影響硝化作用之因素

I、 酸性(acidity)

最適當的pH在6.6至8.8、pH 6.0以下之農業土壤其硝化作用明顯下降，pH 4.5以下則非常的微弱。在高pH，其NH_4^+抑制NO_2^-轉變爲NO_3^-，酸性的森林土壤都出現NO_3^-，可能於燒或清除時氮礦化比同化作用之量多，也可能在森林土壤中硝化作用菌對酸性之敏感性較農業土壤爲低之故。

II、 通氣性(aeration)

因爲所有硝化菌卻是絕對好氣性，土壤氧之擴散經由（被控制土壤土分與土壤結構）通氣性是非常重要的。

III、 濕度(moisture)

因爲濕度影響土壤通氣性，土壤水分狀態影響硝酸(NO_3^-)之生成。浸水阻止NO_2^-之擴散，硝化作用則被抑制，在極端的另一面，細菌的繁殖不受水分之阻礙。適當的水分含量隨土土壤而定，一般來說，硝化作用從-0.1～1Mpa，一般銨化作用產生NH_4^+對水及低溫逆境反應較不敏感，NH_4^+可在缺水逆境及低溫不累積。

IV、 溫度(Temperatre)

硝化作用明顯受溫度影響，其在 5°C以下及40°C以上進行緩慢，適溫爲30至35°C，溫度、濕度、通氣及其他因子之相互作用形成季節效應。在溫帶地區，春秋最高，而冬夏最低。

V、 有機物(Organic matter)

長久以來都認爲有機物對硝化尙有害，此論調並不爲研究者完全接受，因爲堆肥與污水堆中硝化作用仍正常之進行。現在又相信有機物本身並不會有抑制作用，而是無機氮源與O_2常有機物分解菌所必需，使NH_4^+與 O_2二者受制於其他微生物而不利於硝化菌之活動。

影響硝化抑制劑在土壤中效應之因素

影響硝化抑制劑在土壤中效應之因素，列如表二。效應是抑制劑之殘存與硝化菌之生活性之綜合。硝化菌之生物活性係指相對之硝化抑制力。例如，一種化合物可能長時間殘存於土壤中，但對於硝化菌之活性抑制力小，因爲它被土壤膠體吸附著，而另一種化合物可能很快從土壤中消失，但它殘存之短暫時間內有高度的生物活性。影響生物活性及殘存之因素往往是互相作用的，而其情境是複雜的，常是自然生物系統之典範。

I、 硝化抑制劑

硝化抑制劑之間有很大不同之揮發性與溶解性。此特性嚴重的影響該化合物在土壤中之行徑及有效性。低溶解度有利於該化合物被土壤膠體疏鬆吸附，也不會隨肥料施用帶淋溶損失，但它之移動性可能較肥料爲緩。如 Hendrickson等(1978a)發現N-serve於低陽離子交換能力之灌漑砂土中較銨離子之移動性慢。相對的，CS_2與CH_4是高揮發性，很快分散於土壤空隙之中。因此，此兩種抑制劑雖然殘存性有差別，但在初期抑制硝化作用較那些揮發性低者之效果好。土壤有機物含量高，N-serve之移動性非常之小。

揮發性強烈出現於高度團粒之土壤與砂土，成爲影響抑制劑效果最重要之因素。於團粒土，銨之氧化速率可因土壤團粒中不同部位而不同，同時呈現非均勻性的，硝化抑制劑必需充分地與所有的土壤粒子接觸，才可控制硝化抑制劑，特別是有大量的氮素從土壤有機礦化釋放時，可看出其此一特性。

許多試驗指出，有機性之抑制劑能緊密吸附於土壤有機物膠體上，這時抑制劑之移動性、揮發性與生物活性都減低，而殘存性也可能增加或減低。Gilmour(1984)發現ATC與粘粒及有機物相互作用，減低其有效性，此可能關連著此一殺草劑分解。

如於低有機物含量之砂土添加焦炭，明顯的降低N-serve之生物活性，通氣性良窳也有可能影響物之移動性，N-serve因通氣性增加而損失，接著硝化菌恢復迅速。抑制劑之揮發性與土壤有機物含量綜合發揮抑制硝化作用之效果。乙炔對礦質及有機質土壤之抑制效果大，而雙氰銨與N-serve對有機質土效果差。

安定性也是重要的，一個理想的硝化化抑制劑必須能持留於氮素最大量損失的臨界期間。然而長期間的殘留並不好，因爲一般作物在平衡的NH_4與NO_3下生長佳，品質優。如果作物不能很容易的同化NH_4^+，則產量受抑制。N-serve在壤殘留的半衰期爲5～92天。隨土壤之質地，有機物含量及溫度而異，因此，如何有效率使用此一揮發性化合物應予注意。

一些抑制劑降解很快形成無毒害殘餘物，如N-serve之主要殘餘物是6-chloropicolinic acid，硫代硫酸鹽(Thiosulfate)則分解成較毒的中間物。硫代化碳酸鹽(Thiocarbonates (CS_2))很快分解爲CS_2。

乙炔可被固氮菌還原爲乙烯。雙氰銨水解之最終產物爲尿素，其中間物沒有生物活性。其分解速度隨有機物，氫氧化鐵與溫度而增加。

II、 酸鹼度(pH)

雖然N-serve水解不受pH之影響，但此抑制劑在土中最有效是在硝化菌活性低之強酸性。這pH於應包括硝化菌族群與其復原速率。缺乏抑制劑時，亞硝酸之毒害出現在pH低於5。然而硝化作用進行於酸性土壤，特別是森林土，pH低，高出純培養狀態下很多，此常被述爲是異營硝化作用。不過硝化作用易於高pH下進行。大部分研究指出，自營硝化作用於pH 4.0停止。對硝化菌族群來說，pH增加，對抑制劑之敏感性亦增，pH低時，抑制效果呈現不佳。但問題是高pH時硝化菌之生物活性被抑制劑作用而獲得抑制效果，一旦抑制劑消失，其硝化菌之生物活性之復原能力快，而又回到原來之高度硝化速率。硝化菌中*Nitrosolobus*較*Nitrosomonas*易被N-serve抑制。

III、 溫度

硝化菌活動適於中溫範圍(15～35℃)，而低於此溫度，則降低其活性。硝化作用於0℃時進行非常的慢。

IV、 水分

硝化作用速率強烈受土壤水分含量之影響，土壤水分含量從乾燥至田間容水量，隨水分增加而增，一旦到達田間容水量後，隨水分之增加而減少，係受氧減少之限制。硝化抑制劑在土壤乾時效果較濕時有效。不整地之硝化作用較整地者快速，可能係土壤水分含量不同之關係。

表一、一些常用與專利之硝化抑制劑

化學名稱	化學式	揮發性	相較性 水溶性	備註
a. Dicyandiamide (DCD)	$C_2H_4N_4$	低	高	緩效性肥料
b. Carbon disulfide 及衍生物	CS_2	高	高	燻劑,低濃度硝化抑制劑
c. Ammonium thiosulfate (ATS)	$(NH_4)_2S_2O_3$	低	高	最近開發,低效率,尿素酸抑劑
d. Nitrapyrin(NP)	2-chloro-6 (trichloromethyl) pyridine	中	低	推廣與使用最多之硝化抑制劑
e. Etridiazol(ED)	5-Ethoxy-3-trichloromethyl-triadiazole1,2,4,-triadiazole	中	高	殺眞菌劑,尙未登記
f. ATC	4-Amino-1,2,4-triazole,Hcl	低	高	用於日本,與殺草劑aminotriazole有關
g. Acetylene及衍生物	C_2H_2	高	高	抑制N_2O之還原,固氮酵素活性

表二、影響土壤硝化抑制劑效應之特性

特性	備註
A.抑制劑之特性	
a.水溶性	影響施用型態,淋溶率。
b.揮發性	影響表面施用之損失,經過土壤與進入微土粒。
c.吸附於土壤膠體,有機物	淋溶率,移動進入微小孔。
d.安定性(降解率)	殘存之主因,受土壤與非生物因素之影響。
B.土壤化學與物理性	
a.pH	影響硝化抑制劑之安定性,硝化菌之活性。
b.表面積與荷電	吸附硝化抑制劑,硝化菌活性,NH_4移動性,pH緩衝性。
c.空隙(大小與分佈)	通氣性及增加硝化菌活性,抑制劑之移動性,保水性,溫度。
d.氮素有效性	礦化產生之NH_4^+不受抑制劑之作用。
C.土壤生物性	
a.硝化菌族群	品系多元性,世代時間。
b.能源	異營環之驅動力,NH_4^+競爭性,微生物活性, 抑制劑之降解。
D.非生物因素	
a.溫度	主要驅動力,增加硝化菌活性與抑制劑之降解。
b.水分	硝化菌之溫度適性,濕土升溫慢,淋溶率增加。
E.管理因素	
a.肥料型態	肥料轉換產生酸或鹼。
b.施用法	撒施較條施需多量抑制劑,表施造成揮發。

結　論

硝化作用大部係由自營性及少部分異營性細菌將還原態之銨轉變爲氧化態之亞硝酸與硝酸之過程。在土壤中硝化作用速率受土壤酸鹼度、通氣性、水分含量、有機質含量及溫度之影響。由於硝化作用之產物即亞硝酸與硝酸帶陰電性，易於土壤中淋失，減低氮肥施用放率，進入水體，造成優養化與飲水品質劣化，因此，如何減低硝化作用，爲農業與環保工作者之研究重點。硝化抑制劑對硝化作用之抑制能力受本身化學結構式、溶解性、揮發及吸附性、以及土壤物理、化學性及生物性之影響而有不同。硝化作用及抑制劑效果之研究在本省很少，基於氮肥施用效率提昇、環境保護及營養衛生，建議積極規劃辦理相關研究。

參考文獻

1. Bock, E., H.P. Koops and H. Harms. 1986. Cell bilolgy of nitrifying bacteria In: Nitrification, edited by Prosser, J. I. P.17-38. special Pub . Vol. 20. Society for General Microbiology.
2. Keeney, D. R. 1986. Inhibition of nitrification in soils.In: Nitrification, edited by Prosser, J. I. P.99-116. special Pub. Vol. Society for General Microbiology.
3. Paul, E. A. and F. E. Clark. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, Inc.

The Application of Nitrification Inhibitors

Huang, S. N.
Hualien District Agricultural Improvement Station

Abstract

Nitrification is an important process in nitrogen cycle mediated by mostly chemoautotrophic microorganisms in natural ecoystems. Through this process, the reduced ammonium is oxided to nitrite and nitrate are leached from the soil, aparted from rhizosphere, lowered the N-fertilizer recovery rate, and might deteriorate the water qualities. Furthermore, the process provide the sources for denitrification. The production of niftrousoxide from nitrification-denitrification is blamed by the enironmentalists. In this paper the nitrifers, soil environment affect the activities and the nitrification inhibitors are introduced.

key words：Nitrification，Nitrifer，Nitrification inhibitor

綜合討論

台大張喜寧教授問：

我們進行園藝菌根十多年卻苦於無法找到適當農戶合作，可有什麼方法協助我們？

農林廳柳台生科長答：

剛才張教授談的問題，我先說明一下因爲剛才我在聽各位報告的時候我也想到過這個問題，因爲有的人想做這個不知到那裡找，有的專家想委託農民卻找不到，所以農委會黃技正，張小姐在這裡我想我們要有臨時的或非正式的組織，像說黃技正做召集人，幾個試驗場所的人，有一個系統，若某單位要找合作對象就找黃技正或是我兩個來連繫改良場或試驗所的人，我們要有一個系統，這不但要找而且要有經費支援我想這個可能要用這種方式，不知道是不是可以這樣做。

農委會張淑賢技正答：

我想我們本來就有一個計劃就是微生物肥料的開發及利用研究，就是一個團隊的研究，內生菌的應用也是這裡面的一項，今天下午就有一個計劃的研提檢討。在這邊我想各位若是在研究方面，若是在大學裡面可能在做田間的時候會找不到對象來合作可以跟改良場的人來合作，大學裡若是有好的菌種或是好的方法，可以跟改良場合作，到現場去測試，我想這是一個比較好的方式。在下午若是有這一方面的需要，可以提出來再相互討論。

農林廳柳台生科長補充說明：

如果各位有要找改良場不方便的話，可以跟我連絡，因爲我有很多電話號碼，我的電話是(049)332191農林廳農產科柳台生，我那個地方沒有什麼專家，但是電話號碼很多。

農林廳柳台生科長問：

到底農民在作這個工作的時候，不知道對政府有何要求，對於改良場有何意見，這問題很小但是也很大，是不是這兩位先生也可以發表意見，因爲我只聽到他們講好聽的話，或許他們也有抱怨的話也不一定。

陳銘森農友答：

謝謝柳科長的關心，確實在這個過程裡面，我在講的時候提到過一個問題，就是我們分所長現在要到溪口去教農民再配合一些不接種的，經過農民的反應，講說，有沒有補助款，補助我的損失其時我們在做就是這個問題，因爲溫室設施裡的栽培成本比較高不接種產品品質降低，相對效益也就降低了，確實有這個問題，所以我很希望有關單位能夠在要做的時候，要給農民一個很滿意的補助，他的意願才會高，做起來這個工作也會徹底，在他意願不高的情況下可能做起來的成果不會達到理想，還有現在農場方面也競爭，如果配合得到一些成果，試驗單位就馬上把它公佈出去了，沒有給他賺錢的機會，他辛辛苦苦的卻賺不到錢了，我希望保留一點給他賺錢的機會，多賺一些當爲酬勞。

花蓮農改場黃山內場長建議：

1. 擇期再行舉開研討會，激勵微生物肥料之開發與利用工作。
2. 規劃微生物肥料之研究並按研究結果設立示範及推廣體系。
3. 著重微生物之開發，同時對土壤條件之間的關係應予注意，對土壤性質充份了解，才不會迷失而誤導微生物之使用。

中華永續農業郭瑞昌先生建議：

建議政府在農產品銷售市場闢建有機農業自然農法生產的農產品。一、以有機農業自然農法生產的農產品成本較高，雖然有機農法生產的產品有很多好處但沒有市場銷售管道，引不起農產品生產者使用有機農法的興趣。二、如果處處要求政府編經費補助較沒意思。如能在銷售市場闢有消售管道讓消費者有地方買到有機農業的產品，更能讓生產者有銷售管道將產品賣到合理價格。

陳水良先生問：

我想知道微生物的糧食應當是有機肥料，那麼這樣的話，要把有機肥料作好的話，譬如說生意人拿了一包肥料給我，他就說它裡面有很多的微生物，這樣的話，如果我買了這包肥料去用是不是會像昨天和今天所討論的微生物肥料，是不是會達到那個效果？所以微生物肥料的定義，要劃分的比較清楚一點，才不會導致給農友生意人的誤導。

農委會張淑賢技正答：

針對剛剛幾位先生提出的問題做一個補充。最後一個問題講到說微生物肥料到底是不是一種肥料，我想這兩天的研討會提到就是說微生物肥料還是要有它要素的來源，這裏面以固氮菌來講，它是利用空氣中的氮素，氮氣在空氣中佔百分之八十，氮素因爲作物沒有辦法利用，固氮菌可以把它轉變成銨態氮而被作物吸收利用，它的能量來原是靠寄主作物給它一個能量的來源，所以說以肥料來講，它可以不必施化學肥料，所以昨天的一些示範觀察裡面氮肥可以從公斤減爲公斤就可以了。其它我們講到內生菌根菌，它是幫助作物從土壤裡面吸收不太能夠利用的，像溶磷菌也是把土壤裡面作物不太能夠吸收的磷把它溶解，譬如說內生菌根菌它是根系的擴張可以增加吸收的面積，所以它可以有效的利用，當然它還有一些促進作物生長的作用，整體來講它幫助作物的吸收，促進作物的生長，但是以磷的觀點講，必需要有元素存在，如果沒有這個元素存在不可能無中生有，所以在磷方面講可以說是從無效的變成有效的。基本上要素還是要存在，所以你要把它當作肥料，還是要把他當作肥料促進的想法，這兩種是不太一樣的，這裡面講到溶磷菌有些是和根圈共生的，它就需要有機的能源當作它自己能量的來源。昨天我們的結果提到就是，土壤有機質的含量和溶磷菌的存在的確是有很密切的相關，假如說要促進土壤裏面溶磷菌的生存，可能就是要想辦法壤根圈的有機物能夠高。這個時候有機肥就有這個效果，我們要各種情況都能夠了解清楚，我覺得我們還有很多地方像黃場長提到的，土壤的條件和微生物能不能發揮作用這之間的關係要把它弄清楚，就是說土壤是怎樣的條件，施微生物肥料下去的時候它可以發揮作用，而什麼樣的情況根本不用施用微生物肥料就已經夠好了。另外還有一個問題提到有機農業和永續農業這兩種不是等號，在昨天開場白裡面已經說過

了，有機農業只是達到永續農業一個可能的方法，剛剛也提到如果純粹用有機的，那成本會很高，售價要很高那就只有有錢人才吃得起。如果大家都沒錢時，是不是這有機的東西沒有辦法養活很多人，所以我們現在覺得永續農業是一個目標，盡量讓它永續包括一個經濟上可行，農民有錢賺，環境上它是永續的生產的過程不要對環境造成污染對人來講是健康的，對整個生態來講是永續的。很多的方式包括化學肥料的使用，有機的資材像植物的殘體怎樣再讓它回歸到土壤，作物的殘渣再循環利用，還有微生物肥料的使用，是不是可以減少化學肥料的施用，很多的方式都可以讓我們達到永續農業的目標，而這很多的方式都還在試驗研究當中，有機農業絕不等於永續農業。

中興大學楊秋忠教授補充說明：

有關肥料要怎樣劃分清楚有機肥料或微生物肥料，到底有無混淆之處，首先要知道肥料的定義。肥料的定義有兩種，一種是廣義的一種是狹義的，廣義的定義是肥田之料，在Encyclopedia of soil science(土壤百科全書)裡面，肥料的定義是對土壤元素的來源以及有效性的增加都叫作肥料，這個定義本身就叫做廣義的肥料。但是一般如只講氮、磷、鉀、鈣、鎂等元素，即是以無機的觀念來看是狹義的，如果溶磷菌以狹義的來看就不是叫做微生物肥料，因爲它不會增加磷肥，磷肥不會由微生物帶來，所以以狹義來看就不包括了。一般講微生物肥料是以廣義的肥料定義來說，所以連溶磷菌都叫作微生物肥料，因爲它不是把磷帶進去，是增加磷在土壤中的有效性，所以這是廣義性的肥料觀念，這是要劃分的，肥料本身是肥田之料，所以事實上有可能就包括所謂的Soil condition土壤添加改良劑，是在增加肥料有效性的時候，把它列入這部份。至於有機肥料和生物肥料到底要怎麼劃分，如果有機肥料裡面也有微生物存在，不可能說有機肥料沒有微生物，要劃分有機肥料和生物肥料是產品本身的定位問題，是否特別添加有目地的、標榜的微生物，如此即是微生物肥料，如果你沒有目地的，譬如有機肥在堆積的時候，裏面本來就有很多微生物，你說這是微生物肥料還是有機肥料，如果沒有標榜是天然存在下，我們把它很Rough的方式，叫作是有機肥料不叫作生物肥料，就是因爲你沒有特定加入，所以有特定加入又不一樣了因爲你有特定的繁殖、特定的目標，而且在商品上確定微生物的量有多少，這是我在微生物肥料和有機肥料的劃分上，簡單的補充說明。

中興大學趙震慶教授建議：

請政府加強「微生物肥料」管理，務求商品「微生物肥料」能眞正有益於農作物生產。

台大楊盛行教授建議：

微生物肥料或生物製劑的1.定義2.種類3.目的4.標準5.儲存方法6.有效日期7.使用方法。請農委會，農林廳早日定標準及管理方法。

台大楊盛行教授補充說明：

如果大家注意一下，現在可能會有一點誤解，可能大家看到一個生物製劑，還有微生物肥料。這裡剛剛也講到我們的目的在那邊，現在如果各位看一下，我昨天也去看了一下外面有一些微生物肥料，第一個：我們的微生物肥料在標示上要加強一點。剛剛趙教授也談過，我們在土壤裏面有各式各樣的微生物，相信楊秋忠教授也談過，就是說本來我們土壤中就有很多的微

生物，現在我們要給它一個更好的環境來Enhance，你要有選擇性的功用使你要的微生物長的更好，不要的微生物長的更差。第二個：我們用微生物肥料或生物製劑也好，在上面一定要標明你的目的，你的這個微生物肥料是什麼，我相信我在實驗室裡面，很多人拿了一個東西尤其到中國大陸觀光的話，回來就拿一個東西給我說楊教授你看看這是什麼東西，我很詫異，它上面說這個不是肥料，不是微生物，也不是什麼什麼，但是有什麼什麼，可能嗎？不可能，他要我幫他分析裏面有什麼東西，我說這像海底撈針。第三個：我們在這裡面，剛剛目地講的配方我相信中興大學也做了一些生物肥料，第一個要寫上配方，這配方裏面是用什麼做基質、介質裏面的微生物主要是什麼東西，或許有人講說，現在專利法已經修訂了，微生物可以給專利，從今年開始以前微生物不能給專利，這裏又有人說，姓游的就寫游氏菌，姓楊就寫楊氏菌，又講說或許說什麼菌或許我寫硝化菌也好，根瘤菌也好這裡面的量有多少，要標示一克的基質裏有多少量，一定要寫清楚，不然的話會發生很大的問題，裡面有固氮菌你說有沒有，有啊！趙教授講過，一克土壤裡面有多少量，至少一般土壤肥沃的話可以達到8次方9次方。差的話也有3次方、4次方，那一個也算有啊，所以如此就不知道量有多少。另外儲存方法，大家都曉得，如果在做商品的話怎樣儲存非常重要，因爲微生物在乾的時後會慢慢死亡，它的有效性有多長要怎麼去做，剛剛農友有談過，在菌根菌的話在高濕度不行，低溫也不行，所以儲存很重要，要教農民在甚麼條件裡面，有效期限是多少，製造日期，這些都要寫，如果這樣的話還有就是怎樣去使用，就像醫師開藥方給人家，這藥方是不能吃酸，吃辣的不能一起吃要告訴人家怎麼去使用，不能說只給你藥方，不管你怎麼吃，那有效沒效是看你怎麼吃法。不管是微生物肥料或生物製劑也好，我相信農委會也好，農林廳也好能夠它作成一個定義，這樣購買的人也好，農友也好，做研究者也好大家可能對這一方面會比較好一點。

亞太糧肥邱再添先生建議：

一九九四年六月於韓國亞太糧肥技術主辦『亞太地域微生物肥料及堆肥製造技術國際研討會』我國楊秋忠教授及楊盛行教授代表我國發表論文。希望農家及各方多提供推廣成果給它們，介紹給各國參考。

烽益公司蕭金成先生問：

1. 請農政單位對於農民及肥料、從業人員等在辦研討會時，依層次來提供不同的研討方式及資料。
2. 請楊教授把溶磷菌及熔磷肥在實地應用上時的關係大致區分后，把目的讓各位使用者瞭解。

中興大學楊秋忠教授答：

熔磷是火字旁的熔，熔磷是無機肥料所以在盛成淵教授的肥料學裏就有提到這個，它是無機的，是礦物劑製造的一個過程，火字旁所以它有火字旁經過熱度的關係或是它有濃縮的情形，也就是無機的，而溶磷菌是活的，火去燒就死了這是不一樣的地方。

中興大學王銀波教授建議：

有幾個問題我想在這裏大家提出來討論，第一點：微生物肥料不等於有機肥料，大家都提過

的，所以這點大家要有認識。第二點：就是微生物肥料不只是用於有機農業，不是有機農業照樣可以用，第三點：微生物肥料列入肥料的標準，我希望農林廳和農委會函中央標準局，由肥料小組來定。第四點：有關肥料使用的訓練，事實上中華土壤肥料學會，在前年辦過三班北、中、南、這鈔票是向農委會拿錢的，上一次有關肥料團體的會議裏面，古處長也強調這個會會持續下去。還有一點要在這裡報告的，我們將來要賣肥料的話，一定要對肥料的常識有相當的程度。我們將來舉辦訓練的時候，會有計劃的來辦，辦完了可能發證書，將來就憑這個來做不同程度的訓練，可以做不同的任務，在肥料的販賣、製造可以拿來用。

嘉義農試分所程永雄分所長補充說明：

非常感謝各位熱心的來捧場，農試所舉辦這個研討會，這個研討會是經過大會籌備會所訂出來的名稱，我們原來的計劃是微生物肥料在永續農業生產力之效應，這個題目太大了，所以在籌備會時就針對微生物之開發與利用。黃場長原來是在農委會主辦這個計劃，從七十六年開始到今年告一段落，要我們主辦這次研討會作一檢討，這是我首先要聲明的。第二點：在籌備會的時候認爲永續性農業是政策性，是非常重要的課題，讓我們的農田能夠永續性的生產。永續性的農業有很多的措施，微生物肥料的利用只有一個步驟而已。有些農民都在標榜我這是有機農業所生產的農產品，但也不要過份強調，因爲要很好的管理來配合，不光是靠有機質或微生物肥料就能生產出高品質的東西，所以我們這兩天來，應該要有一個共識，微生物肥料不管是固氮細菌、溶磷菌或菌根菌，它不是萬靈仙丹，不是單一因子，所以我們很多農業的措施及栽培技術，目的是要提高品質、增加生產，這很多都是綜合性的結果不是靠單一因子就可以得到漂亮的成果，希望我們有共同的認識，所有的目的是提高產量增加品質，這些措施綜合性的成果，不管是病蟲害管理，管理好就能夠有好的成果嗎？另外微生物肥料剛才楊教授說的非常清礎。我們研討會有四個主題，固氮微生物、溶磷微生物、菌根菌、及其它有利用潛力的微生物。這些微生物我們可以分成兩類，第一類是製造者，如固氮根瘤菌及籃綠藻是營養製造者，這是楊教授說的狹義的肥料，應該像化學肥料一樣，能夠提高作物生長需要的要素，至於菌根菌它像是一個採礦者，屬於利用者。所以剛才很多人提出來，菌根菌不是萬靈仙丹，它條件更差，它不能製造作物生長的要素，所以土壤裏面要有基本條件，一定要有這個元素它才能利用，現在爲什麼強調磷肥的效應最好，因爲磷肥很容易被固定，菌根菌接種實驗易表現對磷的利用，其實它的效用很多，還有很多不知道的地方，氮、磷、鉀元素都會吸收，是整體性的效果。

農委會黃伯恩技正補充說明：

剛剛有一位先生提到，它生產有機農產品，價格成本比較高，要賣的價格比較好，要賣給誰？我們同時也接受很多消費者團體打電話來問，我願意多花一點錢，來買好一點眞正有機農產品，要向那裏買，這個問題，政府就要在這當中擔任一個橋樑的角色，但是這個農產品如果說，眞正好的價錢，以後不是有機的卻變成有機的，那市面上到處都是，所以我們現在準備透過一個中華永續農業協會，將來他製造一套標準，根據它的標準來檢驗實施登記這種制度，也希望能夠把這個健康的有機農產品推銷給大家。

農林廳柳台生科長建議：

第一點建議：學校單位要作理論上的研究，不過,請各位教授考慮到理論上的研究儘可能跟實用的連在一起，但是改良場所我們要建議不能在理論上的做的太多、太久了，要趕快利用很短的時間把過去研究的理論應用到實際上，因爲加入GATT以後，我們農民不能再等了。農林廳也沒有辦法讓改良場所對農民貢獻，沒有辦法，趕快提出很具體的方法來，這不只是微生物的問題其它問題也是一樣。第二點意見：我聽了陳銘森及洪欽祥先生的報告之後，有一個感想就是，他們除了用微生物肥料以外，更重要的微生物肥料跟濕度有關係，跟裏面各種栽培管理有關係，相信他們兩位一定對農民組織，栽培管理，及市場都很了解，如果洪先生它技術很好，對於他苗的推廣跟販賣，如果做不到就前功盡棄，所以我認爲，在農民推廣方面，最重要的要有市場的觀念，舉個例來講，230萬噸的蔬菜在每年月到第二年月是佔所有產量百分之六十五，最近田間很多把菜聲進去了，微生物弄進去了，菜可以生產很多，要幹什麼，要有市場觀念。有沒有辦法那種微生物肥料讓土壤改良會更好，但是菜不要長出來，本來一甲地可以生產一萬斤，因爲減產生產七千斤，而大賺其錢，所以要有這個市場的觀念。過去有土地就好，再來還要有技術，現在要有市場的觀念，農民還要做販子，如果你不會銷售，那很糟糕。剛才有人講，有很多產品銷不出去，我自我介紹一下，我原來是農產科科長，當四年多，在一個多月前從農產運銷科跑到這裏來，很多介紹農產運銷，你可以來找我，但是我每一次介紹銷售都挨罵，農民罵我市場也罵我，說你介紹這個農民、農戶，剛開始送來時很好，再來不是數量不穩定就是品質亂七八糟，販子遇到我，一天到晚都說是柳科長介紹的。所以要注意一下，怎樣維護我們的品質，怎樣組織起來，你不是一個人要賣，而是很多人把東西集起來運輸才會減少成本，第二個他才有議價的能力，還有要長期間的確保信譽，我們政府單位要補助農民有一個原則，如果這個事情農民在賺錢了政府就不要管了，還沒有辦法成熟的時候，當然我們就要管，我們政府就是要來做示範推廣的工作。要找我的話，還有另一個電話331204楊讚明股長，他是肥料股的股長，也可以找他，隨時跟我們聯繫，我們以後可以爲各位服務，還有肥料可不可以買，我想我們回去還要加強各改良場所的服務推廣中心，到處有推廣中心，打幾通電話就解決了，不要受市場的欺騙。

研討會參加人員名單

農委會	黃伯恩、張淑賢
省政府	余增廷
農林廳	柳台生、范國洋、楊讚明、林文進、黃加賓、翁正憲、黃淑汝、陳清倫、吳雅芳
農業試驗所	連　深、簡宣裕、吳繼光、陳甘澍、楊金興、徐原田、曹文隆、鄭耀星、劉燕雪、王三泰、許華欣
嘉義試驗分所	程永雄、廖嘉信、鄭清煥、安寶貞、何坤耀、洪士程、王麗媛、莊明富、陳隆澤、鍾志明、黃淵輝、陳一心、張清勤、林瓊玖、岳慶熙、黃阿賢
鳳山試驗分所	劉政道、鄭慶生、許仁宏、王德男
桃園區農改場	羅秋雄、游俊明、林燕玉、曾潤錦、徐華盛
台中區農改場	王錦堂、黃秀華、陳慶忠
台南區農改場	林巧玟、曾清田、陳振耕、李文輝、王瑞章、吳炳奇、蔡承良、楊藹華、游添榮、林世欽、謝元德
高雄區農改場	韓青梅、鄭榮賢、許秋玫、洪阿田、蔡永暤、蔡黃敏、蔡金池
花蓮區農改場	黃山內、彭德昌、林素禎、陳吉村、江國忠
台東區農改場	黃明得、周泰鈞
種苗改良繁殖場	黃武林、沈百奎、陳紫淵、蕭芳蘭、黃天民
畜產試驗所	許福星、蕭素碧、洪國源、
蠶蜂改良場	林進財、余錫金
茶業改良場	張鳳屏、林木連、邱垂豐
林業試驗所	王維洋、張東柱、張瑞璋、唐盛林、顏江河、鍾旭和
金門農試所	張金城
台灣大學	沈志誠、張喜寧、蔡養正、賴朝明、陳啓烈、黃　涵、楊盛行
中興大學	王銀波、楊秋忠、趙震慶、蕭同志、劉黔蘭、吳正宗、劉智文、吳文川、蔡東纂、黃裕銘
屏東技術學院	顏昌瑞、陳福旗、陳麗筠、王均琍、傅炳山、蔡秀隆、蔡秋華、何婉清
嘉義農專	童伯開、蔡竹固、楊瓊儒、蕭文鳳、郭章信、黃啓鍾
成功大學	高銘木
東吳大學	趙維良
長庚醫學院	宋樹群
亞太糧肥	邱再發
糖業研究所	王傳釗、陳文崇、黃啓民
台糖公司新營總廠	葉鴻展
糧食局	張尚釗、陳志堅、黃育仁、賴素梅、王月華

台灣肥料公司	任建國、游進明、翁榮聰、常立志
自然科學博物館	王也珍、周文能
台灣花卉發展協會	張靜芬
興農雜誌社	蘇哲民
後龍鎮農會	鄭漢池、鄭耀輝
後龍鎮公所	彭賢珍、李信雄、
嘉義縣農會	黃本足、簡鼎茂、賴仁𡍼
嘉義市農會	黃𡍼池
屏東縣農會	盧　春
士林區農會	陳春韶、吳德欽
鹽埔鄉農會	鄭坤昌
七股鄉農會	陳金秀
溪口鄉農會	張崑城
台南市農會	鄭炎榮
三地門鄉公所	鄭長明、陳文善
九如鄉公所	陳清科、陳朝明
九如鄉農會	張玉卿
新園鄉公所	謝榮春
里港鄉公所	吳壽仁
來義鄉公所	曾永發
枋寮鄉公所	林聰榮、林金成
林邊鄉農會	黃金順
萬巒鄉公所	吳惠娟
枋山區農會	李淑華
潮州鎮農會	鍾玉峰
瑪家鄉公所	伍芳香
泰武鄉公所	黃松崗
新園鄉農會	郭江河
三崙鄉農會	廖金昌
台南縣農會	王同寶
古坑鄉農會	賴兆銓
新碑鄉農會	余丁山
國際美育自然生態基金會	李美雲、蕭仁煌
宜蘭有機農業協會	魏國棟、簡輝煌、羅錫隆、馬清水

公司行號	林英志、盧明宏、黃育清、張宇旭、楊明富、陳文堂、林繼志、蔡阿輝 蔣金玲、楊春地、王條滿、劉永銓、陳俊仁、劉添福、李志仁、陳吉昌 楊朝惟、姜義能、郭豐忠、洪明朝、溫總祥、葉世煌、林學正、郭義雄 蕭金城、黃文秀、蔡榮源、林敏德、林進國、黃炳榮、葉國村、黃運德 楊惠平、顧正乾、周俊明、邱明在、吳錫珪、陳銘堃、郝鳳麟、李榮東 陳坤容、劉清淳、蔡志宗、呂素娥、林永田、任天順、朱芬芬、吳又軍 張峰雄、彭榮宗、郭世仁、張勤財、牛若愚、廖木安、謝宗海、謝權論 張明哲、陳義芳、許銘賢、蔡光亮、陳文得、詹德智、林慶順、鄭來綱 林銘泉、鄭寬禮、蔡顯達、陳水良、邱順興、陳榮富、黃松鐵
農友	洪文堯、黃來發、劉福來、林重興、洪欽祥、陳銘森、黃春雄、鄭茂裕 郭素貞、邱永茂、蔡易新、張國楨、鄭肇和、李煌南、曹明宏、范偉光 張淳堂、楊棋明、呂美煌、沈再木、張銘顯、蔡生輝、王隆煇、陳正雲 陳正昌、莊浚釗、陳溪潭、劉新裕、吳鴻鵬、賴明信、林昭雄、張銘顯 賴文龍、張明聰、林榮貴、林昭雄、楊武都、歐金賢、鄭義雄、張瑞元

研討會籌備大會及工作人員一覽表

研討會籌備委員會：

行政院農委會	黃伯恩
省政府農林廳	柳台生、楊讚明、林文進、郭志誠
中興大學	楊秋忠
省農業試驗所	杜金池、連　深、吳繼光
花蓮農改場	黃山內
中華土壤肥料學會	王銀波
嘉義縣農會	黃本足
嘉義分所	程永雄

研討會工作人員

程永雄、廖嘉信、鄭清煥、安寶貞、何坤耀、洪士程、王麗媛、莊明富、林鳳玲、王婉伶
劉淑美、許淑麗、陳錦玉、張福炘、林美惠、賴美君、姚秀娟、林美莉、洪麗芳、陳鈴蘭
吳柏榕、曹雪菁、吳淑惠、岑　柔、何玟瓊、駱清令、陳茂發、張山和、張釗明、邱顯忠
鄭慶新、陳武男

統　一　編　號
0308548300042

ISBN 957-00-4053-X